B. DANILEWSKY
PROFESSEUR À L'UNIVERSITÉ À KHARKOFF.

LA PARASITOLOGIE COMPARÉE DU SANG.

II

Recherches sur les Hematozoaires des tortues.

Avec deux planches.

KHARKOFF.
1889.

B. DANILEWSKY
PROFESSEUR À L'UNIVERSITÉ À KHARKOFF.

LA PARASITOLOGIE COMPARÉE DU SANG.

II

Recherches sur les Hematozoaires des tortues.

Avec deux planches.

KHARKOFF.
1889.

AUTRES OUVRAGES DE M. B. DANILEWSKY.

Sur l'origine de la force musculaire. 1876 (en russe). Monographie.

Recherches sur la physiologie du cerveau. 1876 (en russe).

Expériences pour prouver la loi de la conservation de la force dans le travail musculaire. 1889 (en allemand).

Observations comparées sur l'hypnotisme des animaux. 1888 (en russe).

La Parasitologie comparée du sang. — 1e partie: les hématozoaires des oiseaux (microbes paludéenes); (en russe — 1888 et en francais — 1889).

L'âme et la nature. 1889 (en russe).

Печатано по распоряженію Председателя медицинской секціи общества опытныхъ наукъ при ИМПЕРАТОРСКОМЪ Харьковскомъ университетѣ.
25-го Апрѣля 1889 года.

Kharkoff. — Typographie de M. A. Darré.

RECHERCHES

SUR

les Hématozoaires des tortues (de marais).

1. Parasites gregariniques.
2. Hexamitus.

PRÉFACE.[1]

Jusqu'a présent, l'existence d'hématoparasites chez la tortue des marais *(Emys lutaria)* était un fait inconnu; et, pour mon compte, ce n'est que pendant l'été 1884 que j'ai pu acquérir une confirmation dèfinitive des recherches préliminaires auxquelles je m'étais déjà livré. Cette absence totale dans la littérature d'indications concernant l'hématocytozoaire de la tortue, est d'autant plus étrange que rien n'est aussi facile que la découverte de ce parasite vermiculaire dans les globules sanguins. Point n'est besoin, en effet, d'user de forts grossissements ou de réactifs particuliers, ce qui rend son étude bien plus facile que celle de l'hématozoaire du lézard. Si les explorateurs qui, il n'y a pas à en douter, se sont déjà trouvés en présence de cet hématoparasite ont fait si peu de cas de sa signification biologique, c'est, j'en suis convaincu, qu'ils l'auront considéré comme un effet du hasard, une sorte de jeu de la nature. Il n'y a, du moins, que cette supposition qui puisse justifier l'inexplicable facilité avec laquelle la présence d'un parasite de grande taille dans le globule sanguin d'un animal normal a pu échapper jusqu'à présent aux investigations scientifiques. Si encore la distribution géographique restreinte de ce genre de parasitisme de la tortue avait rendu son observation peu pra-

1) Une courte communication préliminaire sur ce parasite a été insérée dans les *Archiv für microsc. Anatomie*, 1885, t. XXIV.

ticable; mais nous allons exposer des faits qui sont en opposition avec l'idée de cette localisation étroite et de ce caractère exceptionnel du phénomène en question. Ce sont, au contraire, plutôt la vaste région qu'occupe géographiquement ce parasite et la pluralité de ses manifestations qui frappent l'observateur. Je l'ai en effet retrouvé chez un nombre immense de tortues de provenances les plus diverses. Depuis longtemps livré à des recherches sur les hématoparasites de la grenouille et des poissons, la découverte de plus d'un fait nouveau et intéressant dans cette sphère, m'a encouragé à étendre ce genre d'études aux tortues, aux salamandres, aux lézards et aux serpents, en vue des données générales que l'on pourrait en tirer pour l'histoire des *Trypanosomata* et des *Gregarinida sanguinis*. Malgré des recherches très suivies et très scrupuleuses, je n'ai pu trouver ces flagellés chez la tortue; mais, en revanche, j'ai eu la bonne fortune de découvrir *dans le sang les grégarines parasitaires* dont la description détaillée fait l'objet de la présente communication [1]. Le fait même de la *possibilité* d'un hématocytozoaire en général, autrement dit le fait de l'introduction et de la croissance d'un parasite à l'intérieur du globule rouge n'était pas une nouveauté pour moi. Car j'avais déjà [2] pu me convaincre plus tôt que le «*Blutwürmchen*» de *Gaule (Drepanidium R. Lank.)* n'est autre chose qu'un vrai parasite grégarinien qui, éclos d'un germe inconnu, se développe dans l'intérieur du globule rouge. Mais si, grâce aux difficultés que présente son étude, le *Blutwürmchen* de Gaule n'a pu encore fournir une preuve concluante de la possibilité du parasitisme intracellulaire du sang *(Cytozoa ou mieux—Haemocytozoa)*, cette preuve a surgi incontestable et positive de la découverte du parasite de la tortue.

Cette question a été résolue dans un sens identique par les recherches récentes faites par divers auteurs sur le sang de l'homme pendant les pyrexies paludéennes *(Laveran*,

1) Ces recherches ont été déjà publiées dans les Archives slaves de Biologie. T. III. 1887.

2) Arch. für micr. Anat. l. c.

Marchiafava et *Celli*, *Golgi*, *Metchnikoff*) et aussi par les miennes, sur le sang des lézards et des oiseaux. Ainsi, il est désormais établi que les globules rouges (c. a. d. hemocytes) adultes sont accessibles aux Cytozoaires chez tout un genre d'animaux et chez l'homme, ce qui les rend analogues aux cellules épithéliales des intestins, des glandes génitales, des conduits biliaires, etc. Mais ce qui attache à ce genre de parasitisme cellulaire un intérêt tout particulier, c'est la condition de mouvement constant avec le torrent sanguin à laquelle sont soumis les globules rouges. Nous aurons l'occasion, plus loin, de nous arrêter avec plus de détails sur cette question que, dans mon précédent article, [1]) je me suis abstenu d'aborder; je l'ai réservée pour l'étude qu'on va lire, et qui présente des données plus concluantes pour la solution du problème concernant le mode d'introduction des parasites à l'intérieur des globules rouges.

1. Forme et structure du parasite dans le sang.

Dans une goutte de sang de tortue des marais—prise au choix dans la queue, les ongles, dans une scarification de l'épiderme au point où il vient se souder aux carapaces ou partout ailleurs—on peut voir, même à un grossissement peu considérable (200-300) et sans recourir à aucun réactif, des *globules rouges à l'intérieur desquels on distingue nettement un parasite immobile.* Il se détache d'une façon tranchée par sa substance claire et incolore, tantôt granuleuse, tantôt homogène, selon la grosseur, et, par conséquent, l'âge du parasite. Dans la substance colorée du globule sanguin, ses contours sont d'un relief assez apparent. A côté de ces formes intra-cellulaires, on rencontre dans le sang des êtres de même apparence, mais qui, cette fois, nagent librement *dans le plasma comme des «vermicules» mobiles* et qui sont deux fois plus longs que le globule sanguin. Au premier abord, on

1) Voir *Archives slaves*, 1886, mars, nº 2: les Hématozoaires des lézards.

est frappé de leur similitude, j'allais dire de leur aspect identique, avec une micro-filaria quelconque. Mais, en comparaison des cytozoaires, le nombre de ces hémo-vermicules qui sont identiques aux parasites intracellulaires est des plus insignifiants; à tel point que l'on trouve des tortues où, pour une goutte de sang frais, on n'en découvre pas un seul. Il est de plus à noter que l'on observe quelquefois sur les mêmes préparations des corpuscules de très petites dimensions, ovalaires ou plutôt fusiformes, fortement réfringents et dont la grosseur n'atteint souvent pas celle du noyau d'un globule sanguin. Ces corpuscules, qui ne sont pas des microbes, affectent apparemment un rapport génétique avec le parasite. Du reste, nous y reviendrons dans la suite avec plus de détails.

Nous nous occuperons d'abord *de la forme intra-cellulaire* qui est la plus jeune (v. fig. 23-31).

En soumettant à l'étude une longue série de préparations prises sur le sang de la même tortue avec ou sans réactifs, un fait attire tout d'abord l'attention. C'est que même le plus petit de ces parasites intracellulaires ne laisse pas de présenter, absolument parlant, des dimensions assez considérables; il égale le noyau du globule sanguin; pour la plupart des cas il le surpasse même (0,006-0,008 millimètres environ.) Il est clair que ce parasite de taille minime n'est pas une forme embryonnaire primitive; cette hypothèse tombe d'elle-même, *a priori*, devant la grosseur relativement considérable de l'hématozoaire et devant le fait de sa présence dans un globule sanguin adulte et normal, quant à sa forme et sa coloration; en effet, nous verrons plus bas, en étudiant la moelle osseuse, que ce n'est que par exception que la forme embryonnaire primitive du parasite se retrouve dans le sang à l'état de parasite cellulaire. Les globules qui entrent dans ce tissu liquide ne contiennent que des cytozoaires suffisamment caractérisés. Dans ce cas, ce cytozoaire prend l'aspect d'une vacuole ou d'une tache claire de forme allongée, rarement ronde, avec quelques grains. Ce corps est incolore: c'est ce qui le distingue nettement de la substance ambiante colorée

du globule. Il est situé à côté du noyau. Dans d'autres globules, cette «pseudovacuole» apparait déjà à une phase plus avancée de son développement. On voit à l'intérieur du globule un vermicule clair, transparent, immobile; sa grosseur est variable, sa forme un peu aplatie et les contours en sont nets. Dans son intérieur, plus souvent vers les extrémités, on distingue quelques granulations rondes, assez grosses et fort brillantes. Dans quelques cas, quand les granulations étaient très nombreuses, on a pu remarquer que celles-ci laissent libre, au milieu du corps, un espace clair et arrondi (fig. 27-36). Les réactions avec l'acide acétique et les matières colorantes ont montré que cet espace n'était autre chose qu'un noyau en voie de formation.

Si l'on considère le parasite dans un stade ultérieur de son développement (v. fig. 32-33), sa longueur représente les $^2/_3$ ou les $^3/_4$ environ de celle d'un globule sanguin de moyenne grandeur (0.012—0.015 millimètres); sa substance est moins claire et moins transparente qu'auparavant; on constate les signes optiques de sa forme cylindrique. Le noyau se détache nettement comme une tache claire. L'une des extrémités du parasite vermiculaire est munie d'une courbure: il s'est ployé pour former son deuxième article. Peu à peu, à mesure de sa croissance, cet article s'allonge, se place côte à côte et parallèlement au premier, et c'est ainsi que l'on voit finalement se constituer un parasite adulte, ployé par le milieu—car les deux articles sont sensiblement de la même longueur. Son allongement le fait paraître plus ténu que la forme jeune elle-même. Malgré les observations soutenues, continuées pendant plusieurs jours, que j'ai entreprises sur les stades jeunes de ces parasites dans des capillaires aplatis en verre [1]), je n'ai pas encore pu assister *de visu* à leur croissance, autrement dit—suivre des yeux les modifications correspondantes de leur dimension et de leur aspect. La description qu'on vient de lire est le résultat d'un simple rapprochement

1) Voir *Archives slaves l. c.*, p. 48, 1886.

des formes variées qui représentent la série non interrompue des différentes stades de développement morphologique.

Bref le développement morphologique du parasite au sein d'un globule sanguin se réduit à l'augmentation de la masse du corps, à l'apparition de la forme vermiculaire étranglée, à la différenciation nette et progressive du noyau, enfin à la diminution de la clarté transparente de la substance elle-même et à la réduction du nombre des granulations qu'elle contient. Fait digne de remarque, malgré la croissance du parasite et la consommation de la substance du globule qui l'accompagne, le premier reste toujours incolore. Même pendant la période de destruction la plus active du globule, ni l'hémoglobine ni ses dérivés ne prêtent de coloration au cytozoaire. C'est exactement ce qu'on observe pour les hémacytozoaires de la grenouille, du lézard, des oiseaux et de l'homme (malaria).

Quant à *ses dimensions*, le parasite intracellulaire adulte atteint une longueur environ double de celle du globule sanguin; on voit même des parasites qui, ayant effectué leur croissance dans des globules de grandes dimensions, présentent une longueur encore plus considérable. Ainsi la longueur moyenne approche de 0,028—0,032 millimètres; la grosseur est d'environ 0,003—0,005 millimètres au maximum. Mais on peut trouver des parasites dont les dimensions, plus considérables, varient entre 0,036 et 0,042 millimètres.

La structure du parasite est des plus simples. Tout d'abord nous noterons qu'il appartient aux organismes *monocellulaires*. Son corps cylindrique et allongé présente une extrémité antérieure obtuse et arrondie et une extrémité postérieure légèrement rétrécie. C'est une cellule unique avec un noyau toujours solitaire.—La *substance* du parasite, partout uniformément grise, parait presque homogène. En employant de forts grossissements, on aperçoit des granulations; mais elles sont extrêmement fines et parfois peu distinctes. De loin en loin on trouve quelques granulations nettes et plus considérables, vestiges d'une période moins avancée de développement;

mais elles ne sont qu'en petit nombre. On n'observe, au sein de la substance du parasite, aucun mouvement moléculaire; ce qui, chez beaucoup de grégarines, apparait avec une si grande netteté. Il est probable que l'augmentation du pouvoir réfringent du corps est en rapport avec une augmentation de densité. Le microscope ne révèle, sur le parasite immobile, aucune différenciation en ectoplasma et en entoplasma; cependant, au moyen d'écrasements et de déchirures artificielles, j'ai été à même de constater qu'il existe réellement une distinction entre le plasma central, plus liquide, et le plasma périphérique, plus dense. Ce fait est encore plus facile à constater lors de la formation des étranglements transversaux chez le parasite à l'état mobile. On voit alors distinctement la fluctuation de l'entoplasme plus ou moins liquide qui entraîne le noyau et les granulations fines. Par contre, chez les parasites jeunes dont la substance est plus claire et transparente et qui ne sont pas encore doués de mouvement, toute cette substance paraît composée d'un endosarque unique ou mieux du sarcoplasma futur; on n'aperçoit ni cuticule, ni ectosarque; leur séparation ne s'est pas encore produite. La surface du parasite adulte est recouverte d'une *cuticule* fine et transparente, très réfractaire aux réactifs (alcalins et acides). C'est elle, fort probablement, qui, à la lumière directe, prête au parasite une teinte légèrement bleuâtre, qui rappelle l'épicyte des grégarines.

On comprendra sans peine que les dimensions microscopiques de cet organisme rendent le discernement du *sarcocyte (Aimé Schneider)*, ou, si l'on veut, du myocyte extrêmement difficile. Cependant les observations relatées plus bas, faites sur les mouvements du parasite, militent en faveur de l'existence d'une couche contractile au-dessous de la cuticule; il faut en même temps conclure à la disposition transversale des éléments contractiles (des fibrilles). Il n'y a, du moins, que cette explication qui puisse rendre compte de la formation des *étranglements annulaires*, nettement dessinés, que l'on observe pendant tout le temps que le parasite met

à se déplacer, en vertu d'une fluctuation de l'entosplama, de toute la longueur de son corps. La même raison fait supposer que ces éléments annulaires contractiles doivent être disposés sans interruption sur toute la longueur du corps. On voit, en effet, ces étranglements se former sur toute son étendue, jusqu'aux extrémités, au nombre de deux, trois et plus simultanément. Quant au plus ou moins de fondement que l'on aurait pour assimiler cette couche contractile (myocyte) à l'ectoplasma, ou à en faire un organe indépendant, cette question pourrait trouver sa solution dans l'étude des grégarines de grandes tailles (*Porospora*, etc.); mais il est douteux que les microgrégarines puissent la fournir.

Nous avons déjà noté plus haut qu'*une des extrémités du corps vermiculaire est arrondie*, *obtuse*, tandis que l'autre est plus rétrécie et légèrement pointue. Chez les parasites adultes, le bout obtus et plus large prend quelquefois (v. fig. I) un aspect plus homogène et d'un gris mat; le reste du corps demeure alors plus ou moins granuleux, quoique, par suite de la transparence plus grande du corps, les granulations ne se détachent que confusément, si l'on ne fait pas usage des réactifs.

Le *noyau* constitue un signe morphologique fort important et caractéristique pour la détermination des grégarines. Notons tout d'abord sa présence constante. J'ai déjà dit plus haut que, même chez les formes intracellulaires très jeunes, le noyau est toujours apparent. On l'aperçoit, à de rares exceptions près, très nettement, sans le secours d'aucun réactif ou matière colorante. Ce noyau est situé au milieu de l'entoplasma, sous l'aspect d'une tache claire à contours prononcés, le plus souvent ovale ches les adultes, ronde chez les individus jeunes. Il est vésiculaire et se compose d'une fine enveloppe et d'un contenu semi-liquide, homogène, et dans lequel sont renfermés un, deux ou plusieurs nucléoles sombres (j'ai pourtant eu l'occasion de rencontrer un nucléole unique, mais qui, en revanche, était de dimensions considérables et entouré seulement d'un liseré étroit et clair) (fig. 17). C'est sur les para-

sites adultes et mobiles, pendant la formation d'étranglements profonds, que les propriétés physiques du noyau sont le plus faciles à démontrer (fig. 6-9). L'entoplasma entraînant avec lui le noyau dans son mouvemens de progression, le fait passer de force, l'expulse, pour ainsi dire, à travers les rétrécissements annulaires. On voit alors, sous la pression de l'ectoplasma, celui ci, naguère de forme ovale allongée, se contracter dans l'aire même de l'étranglement transversal; ses extrémités s'effilent chacune à leur tour; à un certain moment, le noyau prend la forme d'un sablier. Mais, dès qu'il a passé à travers le rétrécissement, grâce à son élasticité,—autrement dit grâce à son enveloppe,—il reprend sa forme normale.

Tout innombrables qu'ont été les exemplaires du parasite que j'ai eus sous les yeux, je n'ai jamais vu *plus d'un noyau;* il était toujours *unique*. Ce fait, si caractéristique pour les grégarines, est d'une importance capitale entre autres pour justifier la classification de cet organisme précisément dans ce groupe des sporozoaires. Si dans certains cas, le noyau n'apparaissait pas avec la netteté désirable, on pourrait le mettre en relief au moyen des acides et des matières colorantes. Pour ma part, je donne la préférence à un mélange d'acide osmique faible et de carmin; réactif qui présente en outre, l'avantage d'être un excellent milieu de conservation. Par cette méthode, on colore, outre le noyau et le nucléole, une ou deux grosses granulations, dont la présence est assez rare et qui sont le plus souvent cantonnées à l'extrémité du corps. Par contre, chez les parasites intracellulaires plus jeunes, le nombre des granulations est beaucoup plus considérable, et il n'est pas rare d'en observer dont le corps tout entier revêt un caractère granuleux (fig. 22); pourtant, le cas le plus commun est celui où l'on trouve un substratum homogène et clair dans lequel sont incluses des granulations. Celles-ci sont ordinairement fines et à faibles contours. Mais les formations les plus remarquables en ce genre sont de gros grains jaunâtres brillants, très réfringents, que l'on ne trouve dans le corps qu'en nombre très restreint. Si l'on en juge

d'après leur aspect et leurs propriétés, ces grains sont identiques à ceux que j'ai déjà décrits pour l'hémocytozoaire du lézard.

La formation de *vacuoles* n'a lieu qu'à l'intérieur des parasites en voie de mortification. Chez le parasite vivant et mobile, cette formation n'a été observée ni pendant la croissance, ni à l'âge adulte.

2. *Relations du parasite avec les globules sanguins* [1].

Il est tout d'abord à remarquer, quant à la *situation* du parasite au sein du globule, que, vu de face, il n'en fait jamais saillir les contours et ne les dépasse pas; la forme elliptique du globule reste donc, dans tous les cas, ce qu'elle est normalement. Quand on regarde le globule de profil, on constate aisément que le parasite n'est pas seulement accolé à sa surface, mais *en occupe la substance même*. Il est recouvert des deux côtés par une mince couche de la substance globulaire qui forme sur le globule un renflement correspondant. Les formes les plus jeunes du parasite occupent dans le globule les directions les plus variées et, dans la plupart des cas, ne déplacent pas le noyau globulaire. Mais, à mesure que le parasite s'accroit, il prend une position plus longitudinale et refoule le noyau de côté, ou, ce qui est plus rare, vers l'un des bouts rétrécis du globule (fig. 1). Ces phénomènes de déplacement au sein d'un globule sanguin, qui n'a pas d'enveloppe dans la stricte acception du mot, ces phénomènes, dis-je, présentent beaucoup d'intérêt. Mais, à mon grand regret, ni les cultures capillaires, ni les chambres humides microscopiques ne nous ont permis de suivre ce mouvement pas à pas

---

[1]) Pour donner plus de clarté à l'exposition qui va suivre, je crois devoir indiquer ici les résultats des mensurations de globules sanguins que j'ai effectuées en me servant de l'objectif à immersion nº 10, de *Hartnack*. La longueur de l'hémocyte est de 0,0216 à 0,025; on rencontre de loin en loin des globules qui atteignent 0,027 millimètres des longueur. La largeur est de 0,011 à 0,014. J'ai trouvé des microcytes d'une longueur de 0,0126 à 0,0180; le plus petit hématoblaste arrondi mesure 0,007 millimètres; le noyau ovalaire de l'hémocyte est de 0,0075 de long. Il est néanmoins fréquent de voir des noyaux plus petits, de 0,004 de large sur 0,0055 de long.

et de nos propres yeux. Certaines considérations, que l'on retrouvera à la fin de ce travail, font attribuer au parasite un développement fort lent, chronique pour ainsi dire, au sein du globule, développement qui doit durer des semaines et peut-être même des mois. Et, comme l'augmentation de la masse du parasite en croissance se fait vraisemblablement aux dépens du protoplasma globulaire, on peut aisément s'expliquer comment celui-ci conserve ses contours normaux et comment s'opère le refoulement latéral graduel de son noyau.

Les rapports réciproques du parasite et du globule sanguin sont rendus bien plus apparents sous l'action des influences aptes à séparer dans le globule, la partie hémoglobique (le zooïde de *Brücke*) de son stroma (l'okoïde du même auteur). Cette séparation s'effectue spontanément, si on laisse reposer quelques jours une préparation de sang pur de tortue, même à la température ordinaire (fig. 20). On voit alors le zooïde se condenser en une petite masse autour du noyau ou autour d'une extrémité du globule; peu à peu, émergent des prolongements plus ou moins longs, en forme d'aiguilles droites de zooïde, que l'on prendrait au premier abord pour des formations cristallines d'hemoglobine. On observe parfois, au milieu du zooïde condensé, des rayures irradiées qui ne sont autre chose que ces mêmes prolongements dont la longueur excède souvent celle du globule lui-même. Tout ce qui reste du globule a un aspect hyalin et incolore (l'okoïde). Cependant, le globule sanguin garde toujours sa forme normale; car l'okoïde, cette trame transparente au milieu de laquelle le parasite, jeune ou adulte, conserve invariablement *sa position primitive*, l'okoïde, dis-je, ne bouge pas. C'est dans cette condition que la forme et la position du parasite apparaissent avec un relief des plus prononcés. On obtient le même résultat en employant une solution à 1-2 °/₀ d'acide borique qui concentre également le zooïde autour du noyau, pendant que le parasite demeure immobile dans l'okoïde. Par ce procédé, on surprend quelquefois le parasite *in flagranti*, fixé au moment de son redressement

ou même de sa sortie hors du globule sanguin déchiré (au bout de 24-36 heures).

On voit ainsi que la *fixité de la liaison du parasite avec le hémocyte* est en rapport avec son confinement, pour s'exprimer ainsi, dans l'okoïde. Si le zooïde vient à se déplacer, ou, pour mieux dire, à se rétracter, le parasite reste sans se déplacer dans l'okoïde plus dense.—Les courants induits énergiques, les réactifs chimiques (et entre autres tous les acides) déterminent les mêmes phénomènes dans les préparations fraîches de sang; sous leur action le zooïde ou, si l'on veut, l'hémoglobine est totalement dissoute dans le plasma ambiant. On n'observe d'ordinaire entre le parasite et la substance du globule aucune lacune intermédiaire; l'un et l'autre sont intimement accolés, et la ligne de démarcation, —surtout chez les sujets jeunes,—n'est représentée que par un trait mince et très peu prononcé. Mais dans d'autres cas,—notamment dans les globules obtenus des organes dissociés,—on peut voir autour du parasite une zone claire en forme de fissure qui le sépare nettement de la masse ambiante. Plus rares sont les cas, où cette fissure s'accroît au point que le parasite se trouve dans une cavité intracellulaire remplie d'un liquide clair et transparent (fig. 3, 4, 18, 19, 40).

Même avec les grosissements les plus forts, on ne peut dans ces globules distinguer *aucune capsule ou enveloppe particulière autour du parasite;* de même la portion de la substance globulaire adjacente à la cavité n'a pas l'air de différer, quant à ses propriétés optiques et sa conduite envers les réactifs, du reste de la masse du globule sanguin. Néanmoins, le fait suivant pourrait peut-être faire présumer la possibilité de l'existence d'une capsule particulière. A l'examen de certains organes,—la moelle osseuse, par exemple,—on réussit parfois à trouver un parasite adulte, plié en deux, libre (c. a. d. hors de hemocyte) mais encore immobile; tout dénudé que celui-ci paraisse, on peut, à l'aide de bonnes lentilles microscopiques, saisir autour de lui une raie fine et sombre qui dévoile la présence (le plus souvent sur le bord

concave) *d'une mince membrane hyaline*. Il faut pourtant remarquer que, vu les solutions de continuité ou l'adhérence intime de cette membrane au parasite, je n'ai pas toujours pu la suivre sur toute la périphérie du corps. Quoi qu'il en soit, il serait très plausible que cette membrane ne fût simplement qu'un débris de l'okoïde, au lieu d'être une capsule spéciale. Sur des préparations anciennes de sang, déjà atteintes par une décomposition putride commençante, ce phénomène est encore plus visible (fig. 5).

A ce point de vue, la *désintégration progressive du globule sanguin* qui a lieu parallèlement à la croissance du parasite présente le plus haut intérêt. Nous avons vu qu'au début la masse colorée du globule va en diminuant—mais, notons-le, contrairement à ce qui a lieu, d'une façon si prononcée dans le sang des lézards [1]), la partie périphérique restante du globule sanguin ne subit aucune modification dans ses propriétés optiques et morphologiques. Le noyau acquiert par degrés des contours plus distincts. Enfin, dans certains cas qui pourraient dépendre des dimensions relativement petites d'un globule donné, il ne reste plus de celui-ci qu'une couche périphérique mince et étroite qui, à la manière d'un sac ou d'une capsule commune, embrasse le parasite et le noyau globulaire, désormais nettement apparent et comme mis à nu. Il est des cas où ce sac englobe très étroitement la totalité du parasite en y adhérant d'une façon intime; dans d'autres, l'on observe une fente qui les sépare, surtout vers le bord concave du *vermicule*. Si le parasite sort, après déchirement de la capsule globulaire hémocytique presque décolorée, celle-ci reste avec le noyau et prend l'aspect d'une membrane rétractée et plissée.

Quant au *noyau du globule sanguin jamais* il ne présente d'alterations aussi profondes que celles que j'ai observées dans le globules parasitaires du lézard [2]). Je ne l'ai trouvé ni fortement allongé, ni recourbé, en arc, ni divisé en deux

1) *L. c.* p. 369.
2) *L. c.* p. 371

ou trois parties. La modification la plus considérable qu'accusent ces noyaux des globules de tortue, c'est une forme quelque peu fusiforme qu'ils prennent en vertu de la pression latérale qu'exerce sur eux le parasite (fig. 3-33). On voit alors le bord du noyau adjacent au parasite prendre un contour plus droit; tandis que le bord tourné vers la portion libre du globule présente un contour plus convexe.—Généralement parlant, le noyau du globule sanguin de la tortue se montre incomparablement *plus réfractaire* que celui du lézard. On pourrait, dans une certaine mesure, attribuer cette particularité à la conservation chez la tortue de la consistance gélatineuse élastique des globules parasitaires.

La présence du parasite ne paraît pas influer sur la grandeur du globule. En effet, on peut le rencontrer aussi bien dans les globules de grande taille que dans ceux qui sont petits et jeunes, c'est-à-dire, dans les microcytes, et ceci dans les différents stades de développement. Ainsi, par exemple, dans les microcytes à coloration hémoglobique et à forme elliptique normale, on rencontre d'assez grands parasites occupant toute la longueur du globule, jusqu'a son bord. D'autre part, on peut trouver dans des globules de grandes dimensions des formes fort jeunes du parasite. Par conséquent, on est autorisé jusqu'à un certain point à conclure que la croissance du globule n'est pas entravée par la présence du parasite; et, d'autre part, que les germes peuvent se maintenir longtemps à l'intérieur de globules déjà adultes; autrement dit que le développement de ces germes peut débuter relativement tard. D'ailleurs, ce n'est qu'au moyen des données que l'on trouvera plus bas, que cette question complexe peut être résolue.

Quant au *nombre de parasites contenus dans le même globule*, il est, dans la plupart des cas, d'un seul par globule; et ce n'est que dans des cas exceptionnellement rares que l'on en trouve deux. Ces formes jumelles du parasite sont beaucoup plus fréquentes dans la moelle osseuse. Ce qui donne à ces cas un intérêt particulier, c'est que les deux parasites, comme l'accusent nettement leur dimension, leur forme et leur

structure, peuvent être *d'un âge différent*. Cette inégalité d'âge pourrait être attribuée à deux causes: 1° à la pénétration plus tardive du deuxième germe dans le globule sanguin ou, 2° dans le cas de pénétration simultanée, à des caractères propres à chacun des embryons (pour plus de détails *v.* plus bas) (fig. 32, 33, 34).

On rencontre dans le sang des tortues, outre les globules régulièrement elliptiques, des *hématoblastes* pyriformes et fusiformes, de grosseur médiocre, avec un gros noyau et présentant une coloration hémoglobique plus ou moins nette. Leur nombre est peu considérable, et il est encore plus rare de trouver de jeunes parasites dans ce genre d'hématoblastes sur des préparations de sang pur. Ce n'est que dans des cas exceptionnels que les parasites y atteignent un complet développement (fig. 35-38).

Chez des tortues qui avaient passé l'hiver dans le laboratoire et jeûné pendant plusieurs mois (8-10), j'ai eu l'occasion de voir des *monstruosités (formes d'involution) du parasite*. Il est incomparablement plus rare d'observer ces formes sur les tortues récemment capturées, et je ne les ai pas rencontrées une seule fois dans le sang des sujets jeunes et de petite taille. C'est dans le sang d'une de ces tortues qui était morte d'inanition que j'en ai trouvé le plus grand nombre. Ces parasites étaient pour la plupart des adultes intracellulaires, ou même déjà libres et mobiles. L'anomalie de leur forme—la longueur restant normale—consistait en la présence d'un renflement sphérique à l'extrémité même du corps («en forme de massue») ou un peu en arrière. Ces parasites étaient doués des mêmes mouvements héliçoïdes de vis que présentent les parasites normaux; mais je n'ai pas réussi à observer sur eux la formation d'étranglement. J'ai même observé des formes encore plus irrégulières de renflement des extrémités, qui présentaient alors des excavations et des sortes de rides ou de plicatures. La substance du corps elle-même offrait partout une constitution identique et uniforme. Ces renflements du corps du parasite, sortes d'exsudations sarcodiques, se trouvaient presque

toujours au bout large—anterieur—du parasite. En même temps on constatait que la disposition du parasite (de ses articles) au sein du globule revêtait, en général, un caractère anormal (fig. 21). Les *reins* dissociés sont les organes qui fournissaient ces formes du parasite en nombre particulièrement considérable. Au même titre que ces formes d'involution, on découvrait—quoiqu'en nombre beaucoup moindre—dans le sang des tortues épuisées, des parasites très jeunes sous l'aspect d'ellipsoïdes allongés à grains brillants, de grosseur variable, au nombre de 8-10 et plus; on trouvait aussi des quantités énormes *d'Hexamitus sanguinis* extrêmement mobiles [1]).

3. Caractères biologiques du parasite [2]).

Par une pression, opérée, avec précaution sur la lamelle recouvrante de la préparation, on écrase des globules sanguins qui contiennent des parasites adultes, longs et ployés. Ceux-ci, délivrés de la capsule globulaire, nagent dans le plasma, mais d'une façon passive; ils conservent leur attitude ployée et ne manifestent aucune mobilité active. Ni l'action d'une température de 36°,C., ni l'excitation du parasite par le courant induit intermittent entre des micro-électrodes ne provoquent de mouvement. *La mobilité du parasite apparait pour la première fois dans la période intracellulaire à l'âge complètement adulte et sans l'intervention d'aucune excitation extérieure.* C'est en vertu de sa seule contractilité qu'il se dégage du globule sanguin. Tout d'abord, il commence à se redresser, il s'efforce de se déployer; mais la résistance du globule sanguin est manifestement encore trop grande. Une ou deux minutes après, les contractions deviennent plus énergiques, le parasite se dispose en arc et donne, en le distendant, au globule la forme d'un segment de cercle. Après avoir gardé cette attitude 20 ou 40 secondes ou plus, le parasite, par une contraction brusque

[1]) Voir *Archives slaves* de Biologie 1886 t. I, p. 85.
[2]) Voir *Archives Slaves* t. I, p. 364 et t. III, p. 83.

change de position, et s'arrête de nouveau pour quelques secondes, et ainsi de suite. Grâce à sa consistance gluante, gélatineuse et épaisse, le globule adhère fortement au parasite, suit en se distendant tous ses mouvements, mais ne se déchire pas. Cependant les contractions du parasite deviennent plus fréquentes et plus énergiques, il se retourne, il se recourbe tantôt en arc, tantôt en rond, tantôt en S, jusqu'au moment où, à commencer par sa grosse extrémité—dans la majorité des cas—il arrive à se délivrer du globule qui lui adhère. Alors, continuant son mouvement progressif, son bout libre en avant, et, dans la même direction, le parasite se débarrasse peu à peu du globule qu'il traîne ainsi un certain temps à sa suite (fig. 11-16). En somme, l'acte d' excapsulation dure deux minutes et plus. Je n'ai pas besoin de dire que le mode même du mouvement intracellulaire et la délivrance consécutive du parasite est loin d'être identique dans tous les cas. Ainsi, par exemple, je puis citer une observation où le parasite exécuta pendant quelques minutes un mouvement non interrompu de spirale circulaire autour du noyau comme centre. Par l'observation répétée de ce processus d'excapsulation, on est forcé de se convaincre que la substance du globule sanguin élastique est singulièrement agglutinante et gélatiniforme. Les phénomènes que je viens de décrire sembleraient de plus confirmer l'existence dans le hemocyte *d'une couche périphérique plus dense,* couche qui opposerait la résistance principale à la sortie du parasite.

Malgré les fortes distensions auxquelles est soumis le globule, je n'ai jamais observé sa fragmentation; il a toujours conservé le caractère d'une utricule entière. Rien de plus intéressant ni de plus instructif, en général, que l'etude de cet acte d'excapsulation. Une fois libre, le parasite se meut par *larges ondulations circulaires hélicoïdes*, et ce n'est que plus tard que l'on voit apparaître de profonds *étranglements transversaux*. Cette excapsulation s'effectue beaucoup plus aisément et plus vite si la masse du globule est notablement réduite. au point de faire de selui-ci une espèce de sac à parois minces.

Parfois, après la sortie du parasite, la masse ratatinée du globule sanguin continue encore à se modifier; elle pâlit graduellement en perdant sa coloration hémoglobique. Il y a des cas où la destruction progressive du zooïde c'est-à-dire la perte de l'hémoglobine, commence dans le globule au début même des mouvements intracellulaires du parasite; *dégénérescence consécutive des globules rouges*, en tous points analogue à celle que l'on peut observer dans le sang de la grenouille après le percement, ou la sortie, du *Drepanidium ranarum (R. Lank.)*. Celle-ci est parfois accompagnée d'une *désagrégation totale de la masse du globule* en particules de formes variées (bâtonnets, massues, boules, etc.). Néanmoins, chez la tortue, je n'ai jamais assisté à une destruction analogue du globule sanguin après l'excapsulation du parasite, fait qui démontre que les globules de cet animal sont doués d'une cohésion mécanique plus grande. Le globule sacciforme, ainsi déchiré et évacué, présente des parois en partie épaissies et plissées, en partie saillantes et amincies aux points d'adhérence du parasite. Le globule était donc pour lui une véritable coque qui le préservait des phagocytes *(Metchnikoff)* et, vraisemblablement, lui fournissait en même temps les éléments nutritifs nécessaires.

De plus, le parasite extra-capsulaire, adulte et mobile, se distingue du parasite intra-cellulaire par un pouvoir réfringeant plus considérable; sa substance, finement granuleuse, apparaît plus uniformément sombre avec un reflet bleuâtre. Dans la période du mouvement, ses propriétés optiques restent, généralement parlant, sensiblement les mêmes; mais dans quelques cas, à des grossissements de 800 ou 1000 diamètres j'ai vu de la façon la plus nette une *striation serrée* (transversale) dont les raies m'ont semblé ne pas atteindre la limite périphérique de la cuticule, mais entourer le corps, en forme d'arcs. Ce fait, à mon avis, nous autoriserait, jusqu'a un certain point, à voir dans cette striation, non un résultat de rides ou de plis transversaux formés à la surface de la cuticule, mais bien la manifestation d'une couche sous-jacente (du myocyte?).

D'ailleurs, cette question est rendue à peu près insoluble par le fait des dimensions trop petites du parasite.

On a déjà vu plus haut que le *nombre des parasites libres* ayant achevé leur excapsulation est beaucoup moins considérable dans le sang que celui des parasites intracapsulaires. C'est particulièrement dans les sang des petites tortues jeunes que la première est rare; chez les grandes tortues, à un âge plus avancé, on la retrouve, au contraire, relativement plus souvent. Mais les animaux dont le sang en contient le plus fréquemment, sont les tortues faméliques et épuisées; ce dernier fait est particulièrement remarquable.

Il serait difficile d'admettre que l'épuisement de la tortue et, partant, la modification correspondante des propriétés chimico-physiologiques de son sang, puisse accélérer le développement morphologique de cet animal; c'est donc ailleurs qu'il faut chercher l'explication de ce fait. Celle qui me paraît la plus probante, c'est que, dans les conditions énoncées, le développement *physiologique* du parasite a été accéléré d'une façon indépendante, si j'ose m'exprimer ainsi, du développement morphologique. Autrement dit, ce seraient les conditions anormales, engendrées par l'état du sang, qui auraient évoqué cette *manifestation précoce de la contractilité*. M'appuyant sur des recherches physiologiques, j'estimais que le principal mobile de cette précocité consistait dans *l'insuffisance des processus d'oxydation*, dans la pénurie en oxygène. Ce point de vue a trouvé pleine confirmation dans les observations ultérieures. En effet, si du sang est introduit dans un tube capillaire en verre, à l'abri de l'accès de l'air, on trouvera dans la préparation à la température de 15°-20° cent. et au bout de 24 ou 48 heures, incomparablement plus de parasites libres et délivrés de la capsule que l'on n'en avait trouvé dans la préparation fraîche et dans la préparation de contrôle. Maintenant, introduisons avec le sang des bulles d'air, et nous aurons bien moins de parasites libres (toutes choses égales) dans la préparation de contrôle du même sang. Dans ces conditions d'asphyxie on observe un nombre de parasites

particulièrement considérable dans les préparations de reins, et aussi dans celles de la moelle osseuse.

On voit parfois, 15 ou 20 minutes après la confection de la préparation, les parasites entrer en mouvement çà et là au sein d'un globule, le déchirer et sortir dans le plasma. Le même effet se produit par l'action modérée du pyrogallol sur le sang, dont ce réactif absorbe avidement l'oxygène. Il n'est pas sans intérêt de constater que, dans ces préparations asphyxiques, des parasites non encore adultes, -reconnaissables à leur constitution granuleuse et à leur moindre réfringence,— se trouvent déjà redressés.

On le voit, *le sang asphyxique joue envers le parasite le rôle d'un excitant*; autrement dit, l'excitabilité de ses éléments contractiles est exaltée par l'insuffisance en oxygène. Mais comme un pareil milieu est naturellement impropre à maintenir la vitalité des parasites, on comprendra que peu de temps après leur éclosion, ils périssent, en vertu même de ce manque d'oxygène. Devenus granuleux et riches en vacuoles, ils perdent tout mouvement.

M'appuyant sur les nombreuses observations que j'ai faites sur des hématozoaires variés, provenant des animaux les plus divers, je n'hésiterai pas à affirmer que le fait que je viens de relater n'est pas exclusif à ce genre de parasitisme; on le retrouve chez beaucoup d'autres formes. Il est un grand nombre de cas où le parasitisme présente dans le sang «vivant» et circulant dans les vaisseaux des manifestations qui diffèrent de celles que l'on observe dans le sang extrait des vaisseaux des manifestations qui diffèrent de celles que l'on observe dans le sang extrait des vaisseaux et mis au repos, ou bien dans une préparation microscopique. Cette différence acquiert un caractère particulièrement tranché chez les globes protoplasmiques (*Polimitus* avec plusieurs *flagellum*) que j'ai découverts chez les oiseaux [1]) et aussi dans le cas de formation «d'hémovermicules» chez ces mêmes animaux. Ces formes para-

[1]) Voir 1-re partie de cette „Parasitologie comparée du sang".

sitaires n'ont de manifestation active que dans le sang extrait des vaisseaux. De plus, la manifestation de formes jeunes du *Drepanidium ranarum* ches la grenouille n'aurait lieu, d'après *M. Gaule*, que dans des conditions entraînant la désintégration du globule sanguin, et notamment quand l'action de l'oxygène vient à baisser. Ainsi peut s'expliquer le plus aisément la pensée de *M. Gaule* quand il dit que ses *Blutwürmchen* sont issus *du protoplasma globulaire en voie de mortification*. Et c'est dans le fait que l'état asphyxique est une condition indispensable à la manifestation du mouvement des *Blutwürmchen* ou mieux des Drepanides préexistants (préformés) dans le sang, c'est dans ce fait qu'il faut sans doute chercher la cause du phénomène. Pour mon compte, j'ai eu l'occasion d'observer que la manifestation des Drépanides était toujours plus fréquente et plus nette dans les préparations de sang pur, plusieurs heures après leur confection. Les formes nouvelles plus âgées du *Drepanidium* que j'ai trouvées [1]), celles qui portent un renflement central et *un gros noyau circulaire*, sont préexistantes et libres dans le *sang vivant*. Mais, cela n'empêche pas que vers le début de l'asphyxie de la préparation de sang, après quelques minutes (10-15), leur nombre ne se trouve accru.

Une remarque, qu'il n'est pas sans intérêt de faire à propos de ce qu'on vient de lire, c'est que d'après les dernières recherches physiologiques, le sang asphyxique chez les animaux à sang chaud, joue le rôle d'un excitant énergique en général des appareils nerveux (et musculaires?).

Les mouvements du parasite nageant librement, sont assez variés; mais jamais, et dans aucun cas, je n'ai surpris de mouvements amiboïdes, ni de contractions totales du corps (c'est-à-dire de raccourcissement avec dilatation simultanée). La forme vermiculaire du corps est conservée dans tous les mouvements. Le champ le plus avantageux pour ces sortes d'observations consiste en une préparation de moelle osseuse

1) *L. c.*, p. 386.

ou de rein, à laquelle on peut ajouter, si l'on veut, 0,6 % de chlorure de sodium. Il suffit de 10 ou 15 minutes à la température de la chambre pour que l'excapsulation commence. Le mouvement spiralohélicoïde est celui que l'on observe le plus communément. Le parasite, recourbé en arc, décrit, par une évolution assez lente, un large circuit, qu'il n'exécute pas, d'ordinaire, d'un mouvement continu, mais qu'il entrecoupe de pauses périodiques. En outre, le parasite est doué de la faculté de progresser en ligne droite, *sans modifier aucunement sa forme ni son aspect microscopique*. Ce genre de mouvement est assez vif. Plus haut, il a déjà été fait mention du mouvement en spirale. Outre ces mouvements, j'ai eu l'occasion d'en observer d'autres qui sont caractéristiques pour les nématodes: le parasite vermiculaire se recourbe en arc, ses extrémités se rapprochent, puis il se redresse pour recommencer. Dans ce mode de mouvement, la progression est très faible ou même nulle.

Le mode de contraction que je vais décrire présente un intérêt tout particulier, tant par sa spécificité que par le rapport dans lequel il se trouve avec la structure du corps (myocyte). De plus, autant que j'en ai connaissance, il n'a encore été étudié, d'une façon exacte, que chez quelques grégarinides (*Monocystidea*, par exemple *Monocystis magna*). Cependant, j'ai observé la même forme de contraction chez un flagellé (l'*Hexamitus sanguinis*, *l. c.*). Le mode de contraction transversales partielles que l'on observe chez l'*Euglena* ne présente qu'une analogie apparente et éloignée avec celle dont est doué notre parasite. Voici son mécanisme. A la partie antérieure du parasite, on voit apparaître, sous forme de dépression annulaire, un étranglement très étroit et très profond. A travers cet orifice rétréci, qui se présente sous l'aspect d'une fine ligne transversale sombre, circule l'entoplasma d'arrière en avant. Ce courant peut être facilement suivi en prenant comme points de repère le noyau qui participe au mouvement, ainsi que les petites vacuoles et les granulations. A la suite de cette opération, la partie antérieure du

corps, en avant de l'étranglement, se dilate, tandis que la postérieure se rétrécit. Alors, dans la partie antérieure se forment un ou deux nouveaux étranglements transversaux, le courant de l'entosplasma continuant toujours, et ainsi de suite. Pendant tout ce temps, les étranglements, ou, si l'on veut, les cotractions annulaires partielles, ne changent pas de place; et en vertu du déplacement du corps en avant, ces étranglements semblent s'animer d'un mouvement ondulatoire le long de tout le corps du parasite, d'avant en arrière jusqu'au bout. Mais on voit parfois ce mouvement, déjà commencé, s'arrêter tout à coup et le parasite apparaît pendant quelques minutes comme ligaturé en deux portions.

Le mécanisme que je viens de décrire pour la locomotion par contractions transversales partielles est loin de pouvoir être généralisé à tous les cas où des étranglements transversaux se forment chez les protozoaires. Chez l'hématozoaire de la tortue qui nous occupe, je n'ai vu, il est vrai, survenir ces sortes de contractions que pendant la locomotion; j'en dirai autant des Drépanides des grenouilles chez lesquelles, malgré leurs dimensions fort minimes, j'ai observé cette forme *d'étranglements transversaux* pendant leurs mouvements de progression; de même encore pour les germes falciformes gregarèniques. Au contraire, pour les *Hexamitus* du sang, j'ai vu des ondulations du corps, c'est-à-dire la locomotion rapide d'étranglements profonds, analogues aux premiers et formés sur le corps, qui se produisent pendant l'immobilité de l'animal, immobilité contrôlée par l'adhérence de la monade à un corps quelconque, à un globule sanguin par exemple.

Si, chez les grégarines, nous sommes fondés à admettre une couche annulaire spéciale du myocyte, couche suffisante pour expliquer la production d'étranglements chez ces protozoaires, par contre, nous n'avons nul droit, que je sache, de supposer une couche analogue chez l' *Héxamitus*. Chez les premiers, cette couche trouve sa démonstration dans la striation transversale, déjà mentionnée—et que j'ai découverte chez notre parasite,—ainsi que dans l'aspect ondulé que ses bords

conservent même après la fin des mouvements. Avant moi, *Ray Lankester*, en observant la marche d'une *Urospora sipunculi* en mouvement, avait déjà fait une remarque identique. Ce qui prête à ce genre de mouvement un intérêt prépondérant, c'est que ce mécanisme compliqué de locomotion ne se retrouve pas uniquement chez les Monocystidées de grande taille; les Micro-gregarinidées de dimensions extrêmement petites, comme le *Drepanidium ranarum*, les germes falciformes du parasite qui nous occupe (*V.* plus bas) en sont également doués. Faudrait-il donc attribuer à des organismes si simples et si exigus une couche spéciale de myocyte constituée par des fibres contractiles annulaires?

En ce qui concerne le caractère des mouvements du parasite, en général, il paraîtrait que ni la production et la cessation de ces mouvements, ni les variétés de mode de contraction ne se trouvent en un rapport manifeste et évident avec les circonstances ambiantes. Il importe de noter que quelle que soit la forme du mouvement, le degré de pression exercée par la lamelle recouvrante, la profondeur plus ou moins grande de la couche de sang, la durée de l'état libre extra-capsulaire, enfin divers obstacles rencontrés sur la route, toutes ces circonstances exercent une influence essentielles sur la locomotion du parasite. J'ajouterai le fait suivant: au début même des contractions du parasite, encore encastré dans le globule sanguin, on ne voit que des mouvements de flexion, de redressement et de rotation; mais la *production d'étranglement transversaux n'est jamais observée dans cette période intracellulaire*. Quant à la combinaison de différents types de mouvements, je n'ai fait à ce qu'une seule observation, où un parasite déjà mort fut trouvé infléchi en spirale et muni en même temps d'un unique étranglement transversal profond.

Je n'ai pas encore d'observations directes et immédiates concernant *la destinée ultérieure du parasite*. Celles qui ont pu être faites jusqu'à présent démontrent que, sorti de l'organisme, le parasite périt progressivement, en 16 ou 24 heures et plus, après la confection de la préparation ou de la culture

dans laquelle il est placé. Son corps devient alors plus opaque à cause des granulations et des vacuoles menues qui s'y multiplient; il se forme parfois des vacuoles de plus grandes dimensions. La forme reste invariable, ou bien il y a un retrécissement d'une des extrémités; on voit quelquefois se produire des étranglements permanents. Il est fort probable que le parasite libre traverse dans l'organisme un certain cycle de métamorphoses (*V.* plus loin *Cytocyste*); il se pourrait aussi que, pour les subir, il doive passer dans un autre organisme, comme le font beaucoup d'autres entozoaires (vers).

Le nombre des parasites intracellulaires que recèle le sang pur de diverses tortues est fort sujet à variations. Il est probable que bien des causes viennent influer sur ce nombre; tels sont l'âge, le sexe, la saison, les conditions d'alimentation, etc. Pour les tortues prises aux environs de la ville de Kharkoff, on trouve des parasites dans le sang en toute saison; c'est surtout en été et au printemps que leur nombre augmente. D'autre part, on en observe une quantité remarquable, surtout à l'état de liberté et d'excapsulation, en hiver, chez les sujets affamés et épuisés. L'influence de l'âge se traduit par le fait que, dans la majorité des cas, plus la tortue est petite et, partant, plus elle est jeune, moins elle contient de parasites dans son sang. Je n'ai pas effectué de numérations; mais, à simple estimation approximative, j'évaluerais la proportion de globules parasitaires, chez les tortues très jeunes, à un sur 100 ou 200 globules normaux; tandis que chez les sujets plus âgés, cette proportion est incomparablement plus grande (1:15-20 et même 1:10) [1]. Quant aux formes les plus

[1]) Cette énorme quantité d'hématozoaires est loin de constituer un fait exceptionnel; les lézards en contiennent une masse encore plus grande; on peut en dire autant des drépanidies intracellulaires chez la grenouille. Chez les oiseaux, les cytozoaires sanguins ne sont pas moins nombreux, ainsi que les *Herpetomonas* chez le rat. Il y a même des vers parasitaires d'une dimension beaucoup plus considérable qui existent dans le sang en quantités énormes; je citerai les embryons de *Filaria* dans le sang de la grenouille (*C. Vogt*), et dans celui du corbeau (jusqu'a 600 par millimètre cube, d'après *Leuckart*).

fréquemment observées dans le sang, ce sont les parasites, adultes, ployés en deux; et ce n'est que dans des cas relativement rares que les formes jeunes dominent. J'ai eu plus d'une fois l'occasion d'examiner des tortues dont le sang était totalement exempt de formes jeunes de parasite; tandis que dans les organes (moelle osseuse) ces mêmes formes foisonnaient.

La distribution géographique de ces parasite constitue une question qui n'est pas dénuée d'intérêt. Pendant les trois saisons d'été 1884, 85 et 86, j'ai pris pour objet de mes études des tortues fraîchement capturées, pour la plupart aux environs de Karkoff. Presque tous les sujets que j'ai examinés se sont trouvés infectés du même hémoparasite. De plus, dans ces trois périodes d'observation, j'ai cru voir que le degré d'infection,—autrement dit l'abondance des parasites dans le sang,—était sensiblement le même et ne présentait aucune oscillation appréciable.—Outre les observations mentionnées, il en a été fait pendant chaque saison d'hiver sur des dizaines de tortues conservées dans le laboratoire. Sans compter les animaux dont j'ai parlé, je me suis procuré des sujets provenant d'autres localités du gouvernement de Kharkoff (100 kil. de cette ville), ainsi que du gouvernement de Khersone (500 kil.), des environs de la ville de Marioupol près de la mer d'Asow (400 kil.); de la ville d'Iékatérinodar (Caucase, 700 kil.). Dans toutes ces tortues j'ai trouvé des hémocytozoaires parasitaires, parfaitement identiques à ceux que je viens de décrire et ne différant en rien les uns des autres. Dans la suite, on m'a communiqué la découverte des mêmes parasites chez les tortues capturées près d'Odessa (630 kil.). On voit, par ces données, que, nonobstant l'immense variété des conditions ambiantes d'existence dans ces diverses localités, la distribution géographique de ce genre de parasitisme est extrêmement étendue. Il aurait été du plus haut intérêt de recueillir des données analogues dans des contrées européennes plus éloignées. Il est plus que probable que ce parasitisme sera mis au rang des phénomènes des plus répandus, comme il en est pour les entozoaires intestinaux (vers). La science

possède déjà, en effet, des données qui tendraient à établir l'expansion géographique considérable des hématozoaires. Pour ne citer que les *Trypanosoma sanguinis ranæ*, ces parasites ont été trouvés: en France, par *Gruby* et *Delafond;* en Angleterre, par *Ray Lankester;* en Italie, par *Grassi;* en Allemagne, par *Gaule*, *Rättig;* en Russie, par l'auteur; en Sibérie, par mon élève *A. Chalachnikoff*. Les flagellés hématozoaires (*Herpetomonas Lewissi Sav. Kent.*) chez les rats [1]) ont été trouvés aux Indes par *R.-Th. Lewis;* en Angleterre, par *Saville Kent;* en Russie, par *Lavdovsky* et par l'auteur, etc.

Quelle est la cause précise de l'apparition chez tel ou tel animal d'un hématozoaire déterminé? Quelles sont les conditions biologiques à la faveur desquelles s'établit cette réaction génétique? Ce sont des questions qui attendent, pour être éclaircies, des recherches ultérieures.

Il est certain que les services que la méthode expérimentale (variations de la composition chimique, de la température, de l'action de l'oxygène, etc.) est appelée à rendre, pour l'élucidation des questions mentionnées, seront de la plus haute valeur. Mais, en outre, cette méthode pourra fournir les données indispensables pour l'étude des propriétés biologiques des hématozoaires, propriétés qui se manifestent dans les métamorphoses morphologiques et qui apparaissent dans tout leur développement chez les *Trypanosomata*. Du reste, cette question sera traitée avec plus de détails dans l'article suivant sur les *hématozoaires de la grenouille*.

Avant d'aborder la détermination zoologique de l'organisme parasitaire qui fait l'objet de cette étude, il nous reste encore à examiner la façon dont il se comporte envers *les divers réactifs*. Si ces réactions présentent, pour la majorité des

---

1) En ce qui concerne ce dernier parasite, je crois opportun de noter ici que, suivant mes dernières recherches et celles de *A. Chalachnikoff* dans mon laboratoire, l'*Herpetomonas (Cercomonas) Lewissii* appartient au groupe Trypanosomata, et peut notamment être rapporté aux formes que j'ai déterminées comme „Trypanomonades“.

hématozoaires flagellés, un intérêt fort secondaire, elles sont, en revanche, très essentielles pour les grégarinides qui nous occupent. Ici, on ne saurait négliger l'étude des réactions chimiques (et chromatiques) sous peine de se priver d'un auxiliaire efficace pour les analyses morphologiques d'une certaine délicatesse. Je crois donc faire œuvre utile en exposant, comme je l'ai fait pour les hématozoaires du lézard [1]), les données qui vont suivre.

L'*acide borique* (à 2 $^0/_0$ et au-dessous) détermine la séparation du zooïde et de l'okoïde; le premier se rétracte vers le noyau; mais les contours du globule sanguin et la position du parasite n'éprouvent aucune modification. Le parasite est immuablement fixé dans le stroma, c'est-à-dire dans l'okoïde du globule.—Il est des cas où l'on surprend, à la suite de la concentration et du retrait du zooïde coloré, des mouvements lents du parasite, qui finit par percer le stroma (okoïde) et, ainsi dégagé, plonge dans le plasma.

L'*acide acétique* (dilué) détruit le zooïde et, par ce fait, met parfaitement en évidence, et le parasite, et le noyau du globule sanguin; la consistance granuleuse du premier prend plus de relief. Une action énergique de l'acide détermine le gonflement du parasite; mais il faut plusieurs minutes (10 ou 20) pour vaincre la résistance de la cuticule à la dissolution. Ce réactif qui dévoile, le plus souvent, la présence de la couche myophane, ne donne, dans ce cas, aucun résultat analogue.

L'*iode* (solution avec iodure de patassium) prête à la totalité du parasite une coloration jaune et à quelques agglomérations de granulations une coloration marron foncé. L'addition d'acide sulfurique concentré ne modifie pas cette action; autrement dit, la coloration marron foncé des granulations ne fait pas place aux nuances rouge, violet ou bleu-violet.

La *potasse caustique* (solution faible) éclaircit le corps du parasite sans le dissoudre; la cuticule n'est pas modifiée.

---

1) *L. c.*, p. 380.

L'*acide chlorhydrique*, même en dissolution forte, ne dissout pas le parasite, qu'elle éclaircit cependant un peu (le globule sanguin devient fortement vésiculeux, plein de vacuoles).

Le *chlorure de sodium* (à 10 %) rend le parasite moins transparent, mais plus brillant; sa substance devient plus dense.

Le *chloroforme, l'éther* détruisent le zooïde et mettent le parasite complètement en relief au sein de l'okoïde, réduit à une capsule, et le noyau du globule.

L'acide osmique ne détermine pas le noircissement des granules gros et brillants des jeunes parasites; cependant ceux-ci deviennent un peu plus sombres.

Le *carmin* (de préparation diverse d'après *Fol*, le borax-carmin et autres) colore le noyau du parasite, le nucléole et —rarement,—une ou deux grosses granulations; je l'emploie en même temps que l'acide osmique (0,25-0,33 %). Ce mélange constitue aussi un bon milieu de conservation. La coloration du zooïde est conservée et le noyau du globule, parfaitement éclairci, est d'une belle couleur rose. Je ne crains pas de récommander tout particulièrement ce mélange d'acide osmique et de carmin [1]) pour le sang de la rate et de la moelle osseuse.

Au nombre des matières colorantes composées que j'ai essayées, je crois devoir faire mention du mélange de la solution aqueuse de vert malachite avec l'acide acétique très faible. Parallélement à la décoloration de l'hémoglobine et à l'éclaircissemment du globule sanguin, on obtient une coloration prononcée du noyau et de tout le parasite. L'okoïde, fortement gonflé et transparent, laisse voir tous les corps étrangers qu'il contient. On peut opérer d'après un autre procédé: une mince couche de sang est soumise à la dessication sur une lame de verre, puis, rapidement traitée par l'acide acétique fortement dilué, dans le but de décolorer l'hémoglobine; on applique alors ces matières colorantes en solution alcoolique. Par cette méthode, j'ai pu, déjà en 1884,

---

1) Ce rèactif a déjà été recommande par *Ranvier* pour une application différente.

m'éclairer sur la signification des «pseudovacules» du sang de la grenouille, qui sont des formations protoplasmo-parasitaires, des germes de *Drepanidium*. Ce procédé est encore applicable à la recherche. dans les globules sanguins de la grenouille de la tortue, etc., des formes très jeunes du parasite. L'okoïde du globule adulte n'est pas coloré du tout par le vert malachite: cette particularité peut servir à le distinguer du protoplasma des hématoblastes, qui fixent encore assez bien cette matière colorante. *Les courants induits* énergiques constituent aussi un bon moyen de manifester la présence du parasite au sein du globule sanguin. Le zooïde est détruit et le parasite apparaît très bien, ayant conservé sa forme, sa constitution et sa position. La *safranine*, en solution aqueuse, colore le parasite en rose uniforme et le noyau en jaune-marron; l'okoïde du globule sanguin ne se colore pas, tandis que le protoplasma des hématoblastes prend une teinte rose. Du reste, *la safranine*, comme le *violet de gentiane* ne décèle aucune structure du noyau (coloré en bleu par la gentiane).

Nous nous sommes ainsi familiarisés dans l'exposition précédente avec les propriétés principales du parasite. Nous l'avons vu sous l'aspest d'un microzoaire vermiculaire, fort assimilable aux «hémo-vermicules» analogues de la grenouille. du lézard et des oiseaux. Ses formes jeunes intracellulaires ne diffèrent presque pas des hémocytozoaires immobiles des lézards (forme (*a*) et formes transitoires intermédiaires *l. c.*, pl. VI, fig. 37, 38, 45, 46, 47, 50, 51, etc.) ressemblance qui s'étend à leur attitude à l'égard des réactifs. Le parasite adulte de la tortue, au contraire, a des rapports fort intimes avec le *Drepanidium ranarum* et *avium*, tant par son aspect mouvements. D'autre part, on va trouver plus loin des faits qui établissent la présence chez la tortue de *spores de grégarines* à germes falciformes [1]) qui sont identiques aux

[1]) Dans ces derniers temps j'ai découvert, dans le sang des lézards, des spores et des germes d'une nature identique, c. a. d. renfermès dans les hémocytes.

hémocytozoaires de la tortue. On est donc amené à conclure que le parasite décrit ici se rapporte, lui aussi, *aux grégarinides (ou mieux-Sporozoa) en général*. A l'appui de cette assertion viennent militer *les dimensions, la constitution simple, monocellulaire du corps du parasite, son noyau unique* et *vésiculaire, ses mouvements caractéristiques;* enfin *l'aspect extérieur de son corps, son mode de parasitisme intracellulaire*, et d'autres particularités encore. Du reste, quant à l'aspect extérieur du corps, beaucoup d'autres grégarinides (Monocystidés) presentent une analogie considérable avec les micro-nematodes; citons le *Monocystis Enchytraei* et *Terebellæ (Kölliker)*, le monocyste du Phylodoce *(Claparède)* auxquels il faut ajouter la grégarine de la tortue, objet de cette étude [1]). Malgré la grande similitude qu'affecte ce parasite avec les germes falciformes des spores, sa forme extracapsulaire et libre ne saurait néanmoins être considérée autrement que comme une *grégarine adulte*, et on peut la classer, en général, dans le vaste groupe des monocystidées, auxquels se rattache aussi l'hématozoaire du lézard. Cependant, on s'exposerait fort à commettre une erreur si l'on faisait une distinction trop sévère entre les germes falciformes et les grégarines adultes, du moins, pour ce qui est des monocystidées. Il serait beaucoup plus juste de se rallier au point de vue d'*Aimé Schneider* qui fait du germe falciforme (du corps) une jeune grégarine caractérisée principalement par le défaut du cuticule.—J'ajouterai que les dimensions microscopiques de ce parasite ne sont, en aucun cas, contraires à l'hypothèse que ce parasite est une forme *adulte;* car, par exemple, la forme adulte de l'*Adelea (Aimé Schneider)* est encore plus exiguë (0,010-0,02 mm.).

Après avoir établi la comparaison de cette forme avec les Monocystidées déjà connues, je me suis cru en droit de la

1) On n'ignore pas que, il y a une quarantaine d'années, quelques savants considéraient ces grégarines comme une forme immobile de certains nématodes (*Filaria*); ce point de vue était basé sur la ressemblance extérieure.

considérer comme une *forme nouvelle* et, en témoignage de la haute estime que j'ai pour mon ami *Paul Stepanow*, professeur de zoologie à la Faculté de Kharkoff, je l'ai dénommée *Haemogregarina* (*Cistudinis*) *Stepanowi*. Il est encore difficile de juger, en pleine connaissance de cause, si cette grégarine se rapporte aux monocystidées, au sens strict du mot, ou bien aux coccidées [1]). Pour peu que l'on veuille prendre en considération la forme et les métamorphoses des spores dont la description va suivre; pour peu que l'on considére ces deux éléments comme un signe caractéristique, on devra admettre l'identité des cystospores et des cytocystes des hémogrégarinidées (V. plus loin), et par conséquent, faire *de ce parasite une coccidie monospore* (polyzoïque, d'*Aimé Schneider*) [2]).

Un genre proche de ce parasite est le genre *Eimeria*; par exemple, l'*Eimeria nova* (*A. Schneider*), dont les germes falciformes sont doués d'une grande analogie avec l'*Hémocytozoon* (*b*) *lacertarum*, surtout par le caractère de leurs contractions.

Considérant la similitude des hématozoaires chez le lézard et la tortue, j'estime qu'il n'est pas impossible de les rapporter *tous aux Coccidées*, types par excellence des parasites intracellulaires (Cytozoaires).

Pour pouvoir classer sans hésitation notre parasite, une connaissance plus approfondie du mode d'introduction de cet organisme dans le globule sanguin, de sa multiplication, de son développement, serait de toute nécessité; et c'est l'étude de sa genèse dans le corps même de la tortue qui pourrait nous le fournir. Par malheur, dès le premier

[1]) Si l'on admet une liaison génétique intime entre l'hémogrégarine de la tortue et l'hémogrégarine du lézard ainsi qu'avec les 'corpuscules falciformes provenant des reins du lézards (*l. c.*); si d'autre part on admet (*Ruschhaupt*) que les germes falciformes mobiles pourvus d'un noyau sont propres aux coccidées et non aux grégarinidées (*strictu sensu*), il faudrait placer ce parasite de la tortue parmi *les coccidées*, ce qui semble le plus probable.

[2]) „Sur les psorospermies oviformes". *Arch. de Zoologie expérimentale*, 1881 p. 388.

pas dans cette voie, nous sommes arrêtés par deux sérieuses difficultés. C'est d'abord l'obscurité des processus de multiplication des grégarines (Coccidées comprises) et de la signification des corpuscules falciformes et des nucléoles de reliquat, questions qui jusqu'à ce jour sont sujettes à controverse [1]). C'est ensuite l'anomalie apparente de ce mode de développement tout à fait insolite pour les grégarines mais néanmoins incontestable; de ce *développement solitaire, isolé* au sein du globules, du parasite issu d'un germe extrêmement petit.

Dans le dernier article où j'ai traité de l'hématozoaire du lézard [2]), j'ai déjà mentionné cette question en indiquant les diverses explications *possibles* que l'on pourrait donner de ce fait en prenant les observations d'*Aimé Schneider*, d'*Eimer* et d'*Ed. van Beneden* comme point be départ. On comprend que le même problème surgit également pour les *gregarinidées hémocytozoïques* en général, tant des tortues que des grenouilles, des lézards, etc., etc. Il serait fort possible que le mode même de genèse (infection) et développement solitaire intracellulaire fut le même chez tous les animaux. Partant de cette hypothèse, j'ai résolu d'entreprendre l'étude de cette questions en commençant par la tortue qui fournit le substratum le plus commode pour ce genre de recherches. Le côté fondamental du problème se résumait donc dans l'étude de la *répartition du parasite dans les divers tissus et organes chez les tortues d'âge différent*, point qui emprunte son intérêt, entre autres, dans la différence déjà indiquée, que présentent les tortues âgées et les tortues jeunes quant à la présence du parasite dans leurs sang. En ce qui se rapporte aux organes, j'ai présumé, même à priori, l'importance que pourrait avoir l'étude de ceux d'entre eux qui participent à

---

1) *Ruschhaupt*, par exemple, avance que, chez le *Monocystis lumbrici*, le *nucleus* de reliquat est un vrai germe, tandis que les corpuscules falciformes ne sont pour lui qu'une matière nutritive (!) à l'intérieur de la spore. Cette assertion si peu attendue réclame une confirmation avant de pouvoir être généralisé.

2) *L. c.*, p. 390

l'hématopoïèse ainsi que de ceux qui pourraient servir de porte d'entrée aux parasites du dehors. Les organes hématopoïétiques sont, on le sait, la rate et la moelle osseuse; dans notre cas particulier de la tortue, comme pour les reptiles en général, le tout peut se résumer dans la moelle osseuse. Cette dernière circonstance rendait l'exploration de la moelle osseuse indispensable au premier chef. Et, en effet, elle n'a pas été stérile en résultats du plus haut intérêt, résultat qui vient corroborer le classement du parasite comme une forme de *psorospermie* ou *Coccidium*.

4. Etude des organes de la tortue au point de vue des formes parasitaires.

L'étude de *la rate* (par dissociation, réactifs et matières colorantes), ne m'a fourni, parmi ses éléments, rien de particulièrement intéressant. Les formes du parasite y ont été trouvées les mêmes que dans le sang et ne se distinguent ni par leur aspect, ni par leur nombre, ni par leur variété morphologique. Au point de vue du *phagocytisme* de *M. Metchnikoff*, il n'a pas été sans intérêt d'étudier les rapports des leucocytes amiboïdes et du parasite dans la rate. Mais, même à ce point de vue, les observations n'ont donné aucun résultat positif. Bref, tant chez les tortues jeunes que chez les tortues âgées, la rate semble être un organe indifférent pour la destinée ultérieure du parasite. C'est le contraire de ce que l'on voit chez les oiseaux chez lesquels cette glande joue un rôle des plus actifs dans l'existence des hémocytozoaires; comme elle le fait, d'ailleurs, aussi chez la grenouille pour le Drépanidium.

Les mêmes procédés d'étude appliqués au *rein* frais ne laissent pas d'être féconds en résultats du plus haut intérêt. Tout d'abord, cet organe contient un nombre de *parasites libres et mobiles beaucoup plus grand que le sang lui-même;* c'est donc lui qui constitue le terrain par excellence

pour l'étude du processus d'excapsulation et en général, pour celle des mouvements du parasite. Il est évident que les conditions (chimiques) engendrées dans cet organe favorisent une manifestation plus prompte de la contractilité que cela n'a lieu dans la masse totale du sang.

Mais ce que *le rein de* la tortue présente de plus remarquable, c'est la rencontre qu'on y peut de *spores* authentiques *de sporozoaires;* particularité parfaitement analogue à ce que l'on voit chez les grenouilles et les lézards. Je les ai trouvés particulièrement chez les tortues jeunes, sous la forme d'une vésicule à parois très minces, d'une dimension à peu près égale à celle du globule sanguin et contenant deux germes falciformes. La capsule de la vésicule est mince, parfaitement transparente, d'épaisseur uniforme et à surface unie. Quant aux germes, j'en ai observé de deux sortes. Les uns, probablement les plus jeunes, étaient légèrement recourbés, en forme de boudin; leur substance, assez transparente faiblement granuleuse, grise; les deux extrémités, quelque peu amincies, présentaient une teinte plus foncée, avec une striation transversale manifeste. Je n'ai pu constater avec certitude de tache claire bien distincte (nucleus). Entre les deux spores *(pseudonavicella)*, à l'intérieur de la vésicule, je n'ai remarqué aucune granulation.—L'autre genre de spore falciforme, plus granuleuse, présente les mêmes dimensions (0,011-0,013 mm. de long.); mais elle ce distingue nettement par son aspect. Observée de côté, cette spore est parfaitement falciforme, ses extrémités sont plus infléchies et plus effilées. Comme les premières, elles sont disposées deux par deux dans la vésicule et se regardent par leur bord concave. Leur contour est large, presque double; leurs extrémités contiennent une masse ovale arrondie d'une substance indéterminée, dense et très brillante — (corpuscules polaires en forme de bouton). —La partie moyenne du corps, plus ou moins transparente, accuse une légère striation longitudinale à peine perceptible que l'on doit rapporter à l'enveloppe. L'intérieur de la vésicule contient un protoplasma à fines granulations. Je n'ai jamais rencontré dans le sang de

la tortue de corpuscules analogues [1]). Il est hors de doute que toutes ces formations parasitaires ne sont autre chose que des formes embryonnaires d'une grégarinide *(Coccidia)* quelconque. En égard à leur similitude avec les germes connus, je crois que l'on pourrait considérer ces formations falciformes comme des spores *(pseudonavicella)* contenant chacune un germe falciforme isolé (monocystidées). Il serait, pour le moment, assez difficile de se prononcer sur l'existence d'un lien de parenté quelconque entre ces spores et le parasite du sang. Dans tous les cas, des observations analogues faites sur les tortues, les grenouilles et les lézards rendent nécessaire la conclusion que le *organes urinaires peuvent servir de voie à l'introduction des grégarines du dehors*. Ces organismes gagnent les reins où ils s'encystent et produisent des spores. *Lieberkühn* a fait chez la grenouille une étude plus approfondie de ces phénomènes, et mes observations viennent confirmer ses données.

L'étude de la *moelle osseuse* de la tortue est féconde en enseignements. On y trouve, avant tout, — et beaucoup mieux que sur les animaux à sang chaud, — un tableau des plus démonstratifs de la formation des globules (hématopoïèse), selon les stades morphologiques de leur développement progressif, à partir du leucocyte à grosses granulations jusqu'aux hématoblastes. Mais cette étude fournit encore les données sur lesquelles s'édifie la juste interprétation du développement et de la destinée du parasite dans le sang. Pour ce genre de recherches, c'est à *la moelle osseuse rouge* qu'il faut s'adresser de préférence; on la prendra donc sur les sujets, jeunes, dans les épiphyses, les os longs, dans ceux du bassin et de la carapace, etc. Les tortues adultes présentent une moelle jaune,

---

1) Notons, à ce propos, que j'ai trouvé dans la vessie urinaire de la tortue, des vésicules une fois et demie ou deux fois plus grandes que les globules sanguins, de forme sphérique, munis d'une enveloppe homogène à double contour et à contenu grossièrement granuleux. A l'extrémité opposée de la capsule, on remarquait deux saillies infundibuliformes de substance homogène (épaississement de la capsule) munies d'un opercule d'entrée rappelant un micropyle. Ce sont probablement les vésicules d'un sporozoaire quelconque.

fort riche en graisse et, de plus, très peu abondante, car le canal médullaire se reduit peu à peu. La partie de la moelle rouge la plus intéressante se trouve sous les cartilages articulaires; car la moelle du centre de l'os donne, quand on l'exprime, une masse blanchâtre de gouttelettes graisseuses qui entrave l'observation.—Le procédé que j'employais consistait à dissocier la préparation, soit dans une solution de chlorure de sodium (0,6 $^0/_0$) à laquelle, suivant le besoin, j'ajoutais une parcelle insignifiante d'une matière colorante quelconque (safranine, gentiane, éosine, ou autre), soit aussi dans une solution d'acide osmique ou dans la liqueur bien connue de *Pacini* (avec $^1/_2$ $^0/_0$ de sublimé). J'obtenais l'éclaircissement des parasites par un mélange de vert malachite et d'acide acétique, par le violet de méthyle, etc.

Ce qui nous frappe tout d'abord à l'examen de la moelle osseuse, c'est *l'abondance et la diversité que présentent ici par leur aspect, leurs dimensions, leur situation et leur structure, les formes parasitaires d'hématogrégarines*. On y rencontre des individus très jeunes, des phases primitives de développement, des formes adultes, et enfin, des formes libres et mobiles. Jamais le sang pur du même animal n'offre un tableau aussi varié. Lors même que dans le sang, dans les autres organes,—foie, poumons, rate et autres,—les parasites sont presque introuvables, la moelle osseuse, tout au contraire, contient chez le même animal presque constamment des parasites à diverses périodes de leur développement et en nombre considérable. D'un autre côté, le sang contient presque exclusivement des formes déjà adultes, ployées; tandis que les formes jeunes ne s'y rencontrent que fort rarement. La moelle,— et la moelle seulle— renferme des formes jeunes intermédiaires les plus variées. C'est ici, de même, que l'on rencontre quelquefois des globules renfermant deux parasites dans leur intérieur, ce qui, dans le sang, est un fait exceptionnel. Enfin, c'est la moelle osseuse qui contient ces vésicules ou spores d'hématogrégarines, spores étranges entre toutes, dont l'habitat est le globule sanguin.

Nous examinerons d'abord les formes *jeunes* d'hémato-grégarines dans des globules rouges.

Un fait qui, avant tout, fixe notre attention, c'est l'absence, dans les globules complètement formés de formés parasitaires que leurs dimensions *minimales* permettraient de considérer comme forme primitive embryonnaire; le *moindre* parasite qu'on puisse y observer atteint déjà ou peu s'en faut, la grosseur du noyau globulaire. C'est une tache claire et transparante («pseudovacuole»), à contours plus ou moins nets, qui se dessine d'une façon tranchée à l'intérieur du globule coloré. La forme de cette production est ovale d'ordinaire, rarement ronde. La pseudovacuole *ronde* appartient à des phases plus primitives de développement; communément petite, elle n'atteint jamais la taille de la forme elliptique. De plus, le contour en est moins nettement tracé et son contenu n'offre pas la disposition régulière des granulations (V. plus loin). Ces formations rondes se rencontrent principalement à l'intérieur des jeunes microcytes (microhémocytes) arrondis. Les parties marginales de la pseudovacuole, surtout aux extrémités, présentent un aspect granuleux: certaines granulations sont très ténues et peu prononcées; d'autres, plus grosses, réfractent fortement la lumière et sont brillantes: on en trouve de cinq à dix. Quant à la partie médiane de cette formation, elle présente une forme régulièrement arrondie et, d'ordinaire, une transparence claire sans une seule granulation. A l'aide des réactifs et des substances colorantes dont il déjà été fait mention, on n'a pas de difficulté à démontrer que cette «pseudovacuole» n'est autre qu'une formation protoplasmique, un stade jeune du parasite [1]). Si petite que soit la pseudovacuole au sein du globule, on peut toujours y percevoir une macule centrale claire, relativement grande (noyau); elle est dessinée avec relief, par une couronne de granulations voisines.

[1]) On constate un rapport identique pour les stades jeunes intracellulaires du *Drepanidium ranarum* dans le globule de la grenouille où elles apparaissent aussi sous forme de pseudo-vacuole.

Chez les tortues jeunes,—(de 6-8 cent. de long.)—il n'est pas rare de rencontrer dans la moelle osseuse deux pseudovacuoles à l'intérieur du même globule sanguin définitivement formé, globule qui, sous tous les autres rapports, ne s'écarte en rien de l'état normal. Ces parasites sont installés à côté du noyau globulaire qui, jusqu'à nouvel ordre, occupe le centre du globule. *Dans la phase suivante de son développement*, le parasite égale en grosseur le noyau du globule (0,005-0,007 mm.) et le surpasse même un peu en longueur; il n'en garde pas moins l'aspect d'une pseudovacuole claire. Par sa forme elliptique allongée, par ses contours nets, par ses granulations, très brillantes et de différente grosseur; enfin, par la tache centrale claire (noyau) qu'il contient, et même par ses dimensions, le parasite présente dans cette phase la plus grande analogie avec l'hémocytozoaire du lézard (*l. c.*, fig. 45, 50, 51). A cet âge, le premier commence vraisemblablement à refouler le noyau du globule que l'on trouve souvent déjà déplacé latéralement. Dans le sang, on peut, de loin en loin, rencontrer ces formes; elles y sont toutefois beaucoup plus rares et plus petites que dans la moelle osseuse. Dans la période suivante de son développement, le parasite prend l'aspect d'un *corps vermiforme*, rectiligne, déjà plus sombre que dans les périodes précédentes; ce qui le prive de son caractère de pseudovacuole. Ses bouts sont arrondis, son noyau est facile à découvrir, les granulations brillantes sont encore cantonnées principalement aux parties terminales. On voit souvent autour du parasite une fissure étroite qui le sépare de tous côtés de la substance du globule et le place, pour ainsi dire, comme dans une cavité. Dans cette phase, on peut déjà voir le commencement de l'involution ou de la flexion qui précède la formation du deuxième article du vermicule.—Pour suivant sa croissance, il perd par degrés ses granulations brillantes dont le nombre se réduit à 2 ou 4. Le corps devient plus manifestement homogène mais prend, en revanche, une teinte plus sombre. J'ai trouvé dans la moelle osseuse d'une jeune tortue ($10\frac{1}{2}$

cent. de long.) des formes jeunes du parasite, à la même phase que celle dont il est question; formes chez lesquelles on ne distinguait ni noyau, ni granulations brillantes. Ces formations étaient remplacées dans le corps du parasite par 2 ou 4 corpuscules homogènes d'un gris mat, de dimensions beaucoup plus petites que celles du noyau globulaire. Ces corpuscules, disposés en ligne longitudinale ou par paires, peuvent être considérés, vu leurs propriétés, comme des «*micronuclei*»; leur grosseur varie du tiers au huitième du noyau globulaire.—A l'intérieur de ces *micronuclei* apparaissaient, à leur tour, de très petites granulations punctiformes et sombres. Ces parasites multinucléaires se rapportent à la forme rectiligne et grosse dont la description va suivre. Dès lors, la marche utérieure du développement du parasite devient moins obscure. Le deuxième article subit un accroissement progressif de pair avec la masse générale du corps; celle-ci devient moins transparente, la cuticule se différencie, peut-être aussi l'ecto—et l'entoplasma; le caractère grossièrement granuleux s'efface, et l'on n'aperçoit plus de granulations brillantes dans le parasite adulte et recourbé.

On rencontre encore, dans la moelle osseuse, des formes rectilignes et vermiculaires (sans involution, par conséquent) qui, par leur épaisseur considérable, surpassent les parasites adultes, déjà libres et mobiles. Leur forme est en boudin, à bouts obtus et arrondis; à leurs parties terminales, ils contiennent quelques granulations plus ou moins grosses et brillantes (3-5 et plus). Quant à la substance qui forme leurs corps cylindrique, elle est plus claire et transparente que celle des parasites adultes recourbés et réfracte plus faiblement la lumière. Le double contour de la cuticule est invisible; on n'aperçoit pas de noyau distinct sans le secours des réactifs. Mais sous l'action des matières colorantes, du violet de gentiane, par exemple, on voit se dessiner un gros noyau rond qui, dans la plupart des cas, n'occupe pas le centre du corps, mais bien l'une des extrémités. Le parasite, à l'intérieur du globule sanguin, est confiné dans une cavité; autrement dit, il

semble entouré d'une fissure. Il est d'apparence identique à l'hématogrégarine du lézard (cytozoon *(a)*). Chez les tortues jeunes elles-mêmes, dont la moelle osseuse renferme une quantité immense de ces parasites «rectilignes et gros», le sang n'en contient que très rarement et à titre d'exception. Il est à supposer que cette variété parasitaire est confinée dans la moelle osseuse et ne passe que difficilement dans le torrent de la circulation générale. C'est dans la moelle que s'effectue, selon toute vraisemblance et se poursuit le développement de cette forme; développement dont le caractère est différent de celui qui a été décrit plus haut. En effet, dans cet organe, j'ai trouvé de ces parasites «rectilignes et gros» dont l'un des bouts s'était séparé du reste du corps par une fente latérale oblique qui allait en s'approfondissant. Ce bout représentait ainsi une involution, probablement premier rudiment du deuxième article du parasite. Le bout, obtus et comme recourbé, s'accroît aux dépens de la substance même du parasite qui, pour cette raison entre autres, devient quelque peu plus étroit. Ainsi se constitue un parasite adulte et recourbé. En même temps, comme je l'ai déjà dit, la substance du corps devient de plus en plus sombre, de moins en moins transparente et acquiert, probablement, une densité plus grande; (on le croirait, du moins, vu la résistance plus énergiquée qu'elle oppose aux violences mécaniques et à la pression qui en amène plus difficilement l'aplatissement et la rupture). Cependant, le noyau clair transparent, imperceptible jusqu'alors, se manifeste peu à peu; les *micronuclei* disparaissent; il en est de même des granulations brillantes qui, jusqu'à ce moment, existaient à toutes les phases de développement du parasite. — Quelques réactions indiquent que ces granulations contiennent des corps gras, mais dans une proportion qui paraît relativement peu considérable; une partie de la masse est probablement composée de nucléine.

Ainsi, il me semble nécessaire d'admettre *deux modes de formation pour le deuxième article du parasite,* ou pour mieux m'exprimer, deux moments dans cette formation: 1°

chez les uns, la différenciation de ce nouvel article a lieu dans une période précoce, quand le parasite encore relativement fort jeune, n'a qu'une longueur minime et présente une consistance granuleuse; il se forme un sillon obliquement longitudinal, une fente, qui sépare le nouvel article du corps total primitif devenu deuxième article; 2° chez les autres, cette différenciation ne débute que quand le parasite a acquis des dimensions déja considérables, presque la longueur du globule sanguin, et après la constitution de la fissure limitrophe. Mais, quoi qu'il en soit, on comprend que, dans un cas comme dans l'autre, il ne s'effectue, en fait, aucune inflexion réelle du corps vermiculaire déjà formé; pendant la formation du deuxième article, la longueur du parasite ne deminue pas, mais continue, au contraire, à s'accroître.—Ce deuxième article est beaucoup plus rétréci que le premier, dont le bout gros et obtus devient antérieur, l'excapsulation une fois terminée. C'est donc la partie postérieure plus mince qui se forme la dernière. A mesure qu'il croît, cet article, au lieu de se placer côte à côte et parallèment au corps, se porte, par une involution oblique, derrière le bout large antérieur. Quant au noyau, il se déplace lors de la formation du deuxième article; situé au début vers le milieu du corps (article primitif) il se trouve bientôt refoulé petit à petit dans la courbe même de l'inflexion, au milieu, par conséquent, du corps du parasite. Les granulations brillantes, au contraire, demeurent pour la plupart dans le segment primitivement antérieur, pour disparaître par degrés, probablement en vertu de leur disposition diffuse.

Dans les formes parasitaires décrites, où le deuxième article est en voie de formation, la cavité qui l'entoure se montre parfois beaucoup plus large que le corps lui-même. La fissure est étroite du côté convexe; mais du côté concave où s'opére la formation du deuxième article l'intervalle entre le parasite et cette cavité est assez large. Là, il m'est arrivé, dans quelques cas assez rares, de découvrir un corps rond, de forme nucléaire, assez sombre, et qui paraît dense. Ce

corps prend facilement les matières colorantes; sa longueur est 2 ou 3 fois inférieure à celle du noyau du globule sanguin. Dans d'autres cas j'y ai trouvé, également en dehors du parasite, un petit amas de granulations ténues et sombres. Les cavités en question s'étant formées du fait exclusif du parasite en voie de croissance, il est, naturellement, fort possible que les productions, pour ainsi dire hétérogènes qu'on y rencontre se trouvent en liaison génétique avec les formes embryonnaires du parasite. Non moins curieuses sont les observations rares où la cavité claire que renferme le globule, tout en reproduisant exactement le contour en boudin du parasite, n'est pas remplie par son corps dans *toute* sa longueur. Dans ces observations, on voit souvent la portion terminale de cette cavité rester libre ou mieux remplie d'un liquide clair et transparent dans le quart ou le tiers de sa longueur. Il n'y aurait, pour cet étrange phénomène, que deux explications admissibles: 1° une contraction, ou rétrécissement (*post mortem?*) du parasite, ou bien 2° une prédominence de l'accroissement du globule entraînant l'augmentation progressive de la cavité pendant que le développement du parasite est retardé ou entravé. Il est à regretter que la rareté du phénomène ne m'ait pas permis de donner à ce problème une solution plus complète.

Quant aux *formes adultes du parasite*, elles ne diffèrent, dans la moelle osseuse, ni par leur aspect, ni par leur structure des mêmes formes trouvées dans le sang. Plus haut, j'ai déjà fait la remarque que le nombre de parasites libres est, dans cet organe, plus élevé que dans le sang. Entre ces deux états,—état intracellulaire et état libre et mobile,—il en est encore un intermédiaire, que l'on trouve principalement dans la moelle osseuse, c'est celui d'un parasite déjà dégagé, flottant librement, mais encore immobile, autour duquel on aperçoit une enveloppe hyaline qui l'environne de tous côtés, ou à peu près (v. plus haut). Ce qu'il y a de plus probable quant à la nature de cette forme, c'est qu'elle résulte de la désagrégation presque complète du globule qui a servi de

milieu au développement de l'hémogrégarine; une marche énergique et précoce de la désintégration totale du globule peut déterminer la disparition définitive de son noyau ou simplement sa chute. Cette supposition est basée sur les cas fréquents où l'on trouve de ces parasites recourbés, encore immobiles, autour desquels apparaît avec une netteté parfaite une capsule transparente et incolore qui enveloppe assez étroitement et de tous côtés le parasite adulte; à côté de lui et dans la capsule, on aperçoit un corps dénudé, sombre et ovale qui se colore facilement par le carmin. Comme on l'a déjà décrit plus haut, cette, capsule n'est autre qu'un vestige du stroma — (de l'okoïde) — du globule, et le corps en question, son noyau.

Ainsi l'on voit par ce qui précède, que la moelle osseuse renferme des globules sanguins elliptiques au terme de leur développement, munis de leur noyau caractéristique et qui contiennent dans leur substance des hémogrégarines aux divers degrés et phases de leur formation. C'est dans les dimensions, les contours, la structure et les propriétés optiques que réside la diversité de ces formes; et cette diversité trouve une explication aussi complète que simple dans la différence d'âge du même parasite et dans les conditions de son développement.

Mais indépendamment des faits déjà relatés, la moelle osseuse présente encore un sujet d'étude des plus intéressants pour l'histoire de notre parasite: ce sont les *hématoblastes*. Quoique présentes dans le sang, ces formations y sont infiniment moins abondantes; ajoutons que c'est la moelle rouge et non le sang ou la rate qui a le privilège presque exclusif de renfermer les stades les plus jeunes des hématoblastes. On sait que *Bizzozero* et *Torré* ont établi que chez les tortues, la moelle osseuse était à peu près le seul organe où s'opérait la formation des globules sanguins; le rôle de la rate est nul dans l'hématogénèse [1]). Mes recherches sur ces organes sont

[1]) De l'origine des corpuscules sanguins rouges... *Archives italiennes de Biologie*, 1883, t. IV, p. 309.

venues pleinement confirmer l'assertion de ces savants italiens,— du moins quant à la localisation de l'hématopoièse. Chez les *jeunes* tortues, j'ai trouvé dans la moelle osseuse des hématoblastes de forme variée, caractérisés par leur noyau relativement volumineux, d'un gris mat et flanqué de 1 ou 2 nucléoles. Les hématoblastes très jeunes, dépourvus encore de leur coloration hémoglobique, présentent des formations à mouvements amiboides parfaitement distincts, munies de prolongements (pseudopodes) et formées précisément d'hyaloplasma clair et transparent; leur multiplication se fait par segmentation. En comparant entre elles les différentes formes des hématoblastes, on arrive à déterminer le mode d'après lequel s'effectue leur transformation en globules sanguins. On constate que la forme intermédiaire est un «microcyte» régulièrement ovalaire, faiblement coloré, homogène, qui se distingue du globule parfait par ses dimensions moindres et sa coloration hémoglobique plus faible.

Inutile d'insister sur l'intérêt immense que renferme, au poit de vue de notre problème, l'analyse *des rapports entre les hématoblastes et les parasites*. Il n'y a, en effet, que cette voie qui nous permette d'aborder la solution de la question: *comment s'opère l'introduction du parasite dans la substance gélatino-élastique et assez dense du globule sanguin?* Même a priori, on aurait peine à croire qu'un embryon parasitaire parvienne à se frayer activement un passage dans la substance du globule adulte. L'hypothèse que l'on serait le plus porté à admettre, c'est leur jonction au cours du développement primitif du globule, à partir du leucocyte où, si l'on veut, du corpuscule lymphatique ou lymphoïde. La recherche de ces germes parasitaires dans ces corpuscules présente des difficultés si grandes, que dans la majorité des cas on doit se borner à supposer la présence d'un embryon. Pourtant, dans certaines circonstances, où le protoplasma du corpuscule lymphoïde est plus ou moins homogène, on réussit à apercevoir 2 ou 3 granulations brillantes et jaunâtres qui pourraient avec beaucoup de probabilité être

attribuées précisément à l'embryon parasitaire. Pour les hématoblastes, on a déjà démontré par les premières observations que ces productions contiennent assez fréquemment des corps étrangers de nature parasitaire. On peut, dans quelques circonstances, prêter la plus grande évidence à ce fait par l'emploi de bons systèmes d'immersion et sans user d'aucun réactif ni matière colorante. Dans d'autre cas, ces auxiliaires deviennent indispensables; c'est quand l'hématoblaste, ainsi que le parasite se trouvent encore dans une période très jeune de développement. Dans ces conditions, en effet, le protoplasma de l'hématoblaste conserve encore son caractére légèrement et finement granuleux; sa substance est d'un gris mat ou d'une nuance faiblement jaunâtre. Le parasite a des contours très indécis; il est très petit et de la même nuance gris mat, quoi qu'il paraisse un peu plus clair et transparent que le protoplasma de l'hématoblaste. Parfois, le seul indice par lequel se révèle sa présence sont quelques granulations brillantes disposées en série ou en amas à côté du noyau de l'hématoblaste. Mais il y a des cas où, avec des grossissements moyens, on ne parvient pas à apercevoir ces embryons. Et ce n'est qu'à un bon grossissement de 1,000 ou 1,500 que l'on constate qu'une partie de ce protoplasma se distingue par des granulations plus fournies.—On a pu quelquefois saisir un mouvement moléculaire des granulations.—Mais il est extrêmement difficile de se rendre compte des limites, c'est-à-dire d'établir une délimitation nette de cette partie d'avec le reste du protoplasma. La seule ressource que l'on ait pour élucider la signification de cette granulation à titre d'embryon parasitaire, c'est un rapprochement parallèle de tous les stades intermédiaires des hématoblastes et des parasites. Un signe différentiel important réside dans la disposition de ces granulations qui ne sont pas diffusément éparses dans tout le protoplasma de l'hématoblaste, mais sont plus groupées. Néanmoins *les limites de l'embryon parasitaire* restent invisibles; elles sont, pour ainsi dire, *confodues avec le protoplasma de l'hématoblaste*, et les matières colorantes

elles-mêmes, ne dévoilent pas leurs contours. Le développement du parasite débute par une sorte de concentration de sa substance, par une augmentation de son caractère granuleux; mais son contour linéaire n'en reste pas moins caché; sa substance n'est pas encore suffisamment différenciée du protoplasma du globule sanguin. Pourtant, déjà dans cette période, on distingue au centre de la substance granuleuse une tache ronde et claire (noyau) déjà individualisée. Plus la transformation de l'hématoblaste en globule sanguin fait de progrès, plus s'accroit en largeur la ceinture de protoplasma homogène qui environne le noyau, plus la présence du parasite s'accuse nettement. Et, comme pour favoriéer cette netteté, survient la coloration jaune hémoglobique qui va en s'accentuant, tandis que le parasite reste toujours incolore. Sa longueur minimale demeure inférieure au diamètre du noyau (0,004 mm. environ); il apparaît au sein du protoplasma du globule sanguin comme une tache plus claire et incolore, munie de 2 ou 4 granulations brillantes; ses contours sont confus; sa forme,—autant que l'on peut s'en rendre compte,—est irrégulièrement ovalaire, même vermiforme; dans ce cas, il adhère au noyau de l'hématoblaste par son bord déprimé. Il n'est pas rare de rencontrer, déjà dans cette période, des jumeaux parasitaires et le déplacement latéral du noyau. *Au gré de la production de l'hémoglobine, l'isolement optique du parasite augmente.* Pendant que le protoplasma du globule sanguin va en perdant son caractère granuleux initial, le parasite, au contraire, tout en se développant ou en s'individualisant d'une façon de plus en plus prononcée, garde longtemps encore sa constitution granuleuse. Celle-ci dépend de la présence de très petits grains peu distincts et de ces grains volumineux, brillants et jaunâtres, très apparents dont nous avons déjà parlé [1]). Ce sont précisément ces derniers qui sont, à mon avis, fort caractéristiques

1) Par leurs rapports envers les réactifs, ces grains ressemblent à ceux que l'on trouve dans le corps des grégarines adultes appartenant aux mono-et polycystidées.

pour les stades jeunes de toutes les grégarinides du sang des tortues et des lézards; jamais diffusément épars dans tout le protoplasma de l'hématoblaste, ces grains sont, au contraire, toujours groupés dans l'endroit le plus clair. C'est là *l'embryon intracellulaire de l'hématogrégarine.* Les difficultés attachées à la détermination de sa structure microscopique sont immenses, car, même à l'aide des réactions chimiques et des chromo-réactifs, il est extrêmement difficile d'isoler optiquement cet embryon parasitaire au milieu de la masse totale de l'hémato-blaste. Pour mon compte, je serais porté à voir la cause de cette difficulté dans le fait, déjà mentionné d'ailleurs, que le jeune hématoblaste et cet embryon se comportent envers les réactifs et la réfraction de la lumière d'une façon très analogue. Par contre, dans la suite de la croissance, il s'établit une divergence de plus en plus grande qui s'explique par la différenciation optique plus prononcée du parasite. Bref, tandis que *dans les phases initiales il s'opère une sorte de fusion entre la substance de l'hématoblaste et celle du parasite, on voit, dans la suite, s'opérer entre eux une séparation et une isolation physique.*

Dans les *microcytes* ovalaires ou arrondis, il est aisé, de déceler la présence du parasite. Il y prend quelquefois,—moins souvent chez les tortues jeunes,—une forme distinctement vermiculaire, à dépression tournée vers le noyau du globule; sa substance, transparente et claire ou d'un gris mat, se détache bien sur la coloration hémoglobique du microcyte. Le long du corps et dans son intérieur sont disposés en série des grains volumineux et brillants (au nombre de 3 ou 5). Jamais je n'ai remarqué de mouvements de ce parasite; ses contours ne sont pas encore nettement délimités par une ligne sombre, mais le corps cylindrique et étroit n'en est pas moins bien distinct. Au centre du corps l'on trouve une formation arrondie et claire, c'est le noyau. La dimension de cette forme vermiculaire, que l'on rencontre aussi dans le sang, varie d'une longueur inférieure à celle du noyau globulaire,—variété petite,—à celle des $^3/_4$ du globule sanguin et au-dessus (v.

plus haut: parasites dans le sang); ce qui fait, en chiffres, de 0,004-0,005 mm. à 0,016 mm. et plus. Au cours de sa croissance ultérieure, cette forme se montre identique à une pseudovacuole des plus larges; on l'observe non seulement dans les microcytes mais encore dans les globules sanguins adultes. Enfin, j'ai eu occasion d'observer de ces petits embryons vermiculaires d'hématogrégarines munis de 2 ou 3 granulations fortement brillantes à l'intérieur d'hématoblastes fusiformes doués d'une coloration hémoglobique manifeste.—L'on rencontre, en outre, dans la moelle osseuse des *microcytes* régulièrement elliptiques, mais de dimensions très réduites (environ 0,012 mm. de long), clairs, transparents et d'une grande délicatesse. L'embryon du parasite y est visible sous l'aspect d'une tache finement granuleuse, située le plus souvent vers l'une des extrémités de l'ellipse; cette recherche exige un fort grossissement. Toutefois, comme il a déjà été dit, le parasite apparaît dans la plupart des cas sous l'aspect d'une large pseudovacuole qui se détache assez bien à l'intérieur des cellules sanguines, soit pyriformes ou fusiformes [1]) (hématoblastes), soit ovalaires ou arrondies (microcytes). Au sein des microcytes ovalo-elliptiques colorés de très petite taille, on voit souvent toute la partie médiane occupée par une grande pseudovacuole granuleuse allongée, dont les contours sont cependant fort indécis. Le protoplasma de ce genre de microcytes, quoique déjà coloré, est néanmoins encore faiblement granuleux, ou plutôt trouble et non homogène, ce qui, naturellement, ne rend pas plus facile la détermination des contours de la pseudovacuole.

Ainsi, d'après ce qui précède, on peut clairement se rendre compte de l'importance prépondérante en comparaison du sang qui est dévolue à la moelle osseuse en ce qui concerne

---

[1]) On voit déjà par ces données que le développement initial du parasite a lieu à l'intérieur du globule sanguin *jeune* qui, pendant ce temps, est le théâtre d'énergiques *processus bioplastiques*. La même concordance de croissance et de développement de la cellule qui le renferme, a été observée par le développement de la spore du *Moncystis lumbrici agr.* au sein de la spermoblastosphère encore jeune et douée de propriétés amboïdes *(Ruschhaupt)*.

le développement et la multiplication des hématozoaires. Si c'est en elles que viennent se concentrer ces phénomènes, il faut en chercher la raison dans le fait que c'est précisément en elle aussi que se concentrent les *processus de l'hématogénèse.* Le torrent sanguin qui vient baigner cet organe s'empare des globules parasitaires et les entraîne mécaniquement. Le rôle principal de ce liquide consiste, dans l'espèce, à charrier les embryons primitifs venus du dehors, c'est-à-dire de *l'appareil digestif et, peut-être, des voies urinaires. Ces embryons, une fois introduits dans la moelle osseuse, s'y multiplient, s'y développent et s'insinuent à l'intérieur des globules sanguins.* Dans cet organe, les parasites sont favorisés par la lenteur du courant sanguin, par l'abondance des leucocytes et des hématoblastes, ainsi que par les conditions chimico-physiologiques qui y règnent et qui sont indispensables à l'accomplissement de phénomènes bioplastiques d'une certaine énergie. Dans l'article précedent, j'ai prouvé que ce rôle de la moelle osseuse doit s'exercer à l'égard de beaucoup d'autres formes de parasitisme, même chez les animaux à sang chaud.

Il n'est pas ici hors de propos de faire la remarque que *les éléments spéciaux de la moelle osseuse, les myéloplaxes ne renferment, en général, jamais de formes parasitaires, ni jeunes, ni adultes.* Et pourtant le corps multinucléaire protoplasmatique de ces cellules — dépourvues d'enveloppe, — semblerait devoir se prêter aisément à l'introduction active de l'embryon!

5. *Cytocystes grégariniques dans la moelle osseuse* [1]).

Les résultats de l'examen microscopique de la moelle osseuse relatés plus haut ont fourni des données suffisantes pour pouvoir résoudre la question de l'introduction du parasite dans l'intérieur du globule sanguin et de son développement

1) Voir les dessins 48—56.

intracellulaire. Néanmoins, avant d'aborder la discussion de ces résultats, je crois opportun de donner la description des formes parasitaires qui, indépendamment des précédentes, ont été découvertes par moi dans la moelle osseuse des *jeunes* tortues. Ce sont précisément les *spores* remarquables d'hématogrégarines que j'ai trouvées à l'*intérieur* des globules rouges sanguins qui feront l'objet de cette description.

Dans la moelle osseuse, fémorale de préférence, prise sur des tortues de taille moyenne (16 cent. de longueur, et moins), on observe parfois un corps ovale surpassant quelque peu le globule sanguin en dimensions (environ 0,026 mm. de long) et constitué par une bordure périphérique jaune plus ou moins large et une cavité intérieure. Dans cette dernière on distingue un corps ovale allongé (oviforme), fortement granuleux, sombre, muni d'un assez grand noyau rond. Ce corps ne remplit pas complètement la cavité, mais il est entouré d'une fissure, distincte surtout sur les bords latéraux. Dans la bordure périphérique jaunâtre, plus souvent dans sa portion la plus large, on remarque un gros noyau allongé et légèrement infléchi qui appartient à l'ancienne cellule sanguine transformée désormais en capsule du parasite. C'est donc, comme le montre la description, à un *globule sanguin dilaté par un parasite occupant la cavité intérieure que* nous avons affaire; son noyau, mécaniquement déplacé, est comprimé et déformé; mais la coloration hémoglobique persiste dans toute son intégrité même dans les cas où la bordure périphérique est très étroite, par exemple de moitié plus étroite que le noyau (0,0025 mm). Il est évident qu'ici nous nous trouvons en présence d'une métamorphose consécutive de la même forme parasitaire d'hémogrégarine, parfaitement adulte qui, dans l'espèce, est passée à l'état de repos, autrement dit s'est *enkystée*. Cette forme rappelle beaucoup les grégarines encapsulées, surtout les psorospermes oviformes ou coccidies (par exemple, la *Klossia, (A. Sohn)*, l'*Eimeria* ou *Coccidium ovif.)*. Le globule sanguin lui tient lieu de capsule et, dans le cas présent, elle

correspond à une *spore* isolée. (V. plus loin). On rencontre encore le stade consécutif: le protoplasma granuleux du corpuscule interne augmente, la capsule globulaire externe s'amincit de plus en plus et perd déjà visiblement sa coloration jaune; le noyau de l'ancien globule, c'est-à-dire celui de la capsule actuelle, va en s'amincissant, devient moins net et n'est rendu manifeste et bien visible que grâce aux substances colorantes. Au même rang que ces formations on en observe d'autres qui n'en diffèrent que par la *surface de la masse granuleuse* qui n'est plus lisse, mais *mamelonnée*, comme *parsemée de saillies sphériques* (au nombre de 8, 16 et plus, suivant la grosseur). Cette différenciation s'accentue, gagne la profondeur, jusqu'à transformation de la masse toute entière en *embryons falciformes*.

Ainsi, comme on peut le voir, la masse granuleuse n'est autre qu'une *grégarine en voie de multiplication*, et sa substance est le *cytoplasma*. Au lieu de prélever sur sa propre substance une enveloppe pour la vésicule, elle a utilisé à cette fin le globule même au sein duquel la métamorphose s'est opérée. Comme cette masse parasitaire se transforme en totalité et directement en embryons, on peut, jusqu'à un certain point, l'assimiler à une *spore* (sporoplasma). C'est donc de plein droit que l'on appellera le corps que je viens de décrire *cytocyste* ou *cystospore* (d'une façon correspondante à la dénomination de *cytozoaire*).

Pour nous reporter à la formation mentionnée de mamelons à la surface du cytoplasma, disons que ce processus correspond, sous tous les rapports, à la *sporulation* et rappelle beaucoup, par son aspect, le processus analogue, observé, par exemple, chez l'*Urospora saenuridis* de *Kölliker* [1]). Néanmoins, comme ce ne sont pas des spores, qui se produisent au sein du cytocyste, mais d'emblée des embryons falciformes, c'est-à-dire de jeunes grégarines

[1]) V. *Bütschli: Protozoa*, pl. XXXIV (*Bronn's Klassen u. Ordnungen des Thierreichs*).

mobiles, on comprendra sans peine que ce processus revêt ici une signification toute autre que dans les véritables vésicules de monocystidées; cela ne saurait être une sporulation au vrai sens du mot, mais bien *une differenciation segmentative des embryons directement du cytoplasma.* Bref, si ce processus, par la forme (muriforme) qu'il revêt, rappelle la sporulation, il est, en revanche, parfaitement identique, quant au fond, à la formation d'embryons falciformes dans les spores, ou de vésicules chez les Coccidies.

Nous considérons donc, de plein droit, cette métamorphose au sein du globule sanguin comme un mode simplifié ou abrégé de multiplication chez les hémogrégarines. Au lieu d'une décomposition du cystoplasma en sporoblastes, autrement dit en spores, par la voie d'une sporulation véritable, en place d'une transformation consécutive du sporoplasma en embryons falciformes, nous assistons ici à la *métamorphose intracellulaire de la grégarine,* à l'instar de celle de la Monosporea *(Aimé Schneider), en cytoplasma* et *à la décomposition consécutive de celle-ci en quelques embryons mobiles,* ou, pour mieux s'exprimer, *en jeunes grégarines.* C'est ici le seul cas que je connaisse de multiplication des grégarines, s'effectuant, sans enkystement propre, c'est-à-dire sans que cet organisme produise par lui-même une capsule qui constitue une défense sûre contre les injures extérieures de toute nature. Logé dans le globule sanguin, le parasite s'en fait une enveloppe, phénomène qui n'a *jamais* lieu dans les cellules épithéliales des instestins, dans les canaux biliaires, etc.

Comme confirmation de ce qui précède, je citerai l'observation suivante. Nous avons déjà vu que la différenciation ultérieure du cystoplasma granuleux se fait par production de saillies à la surface de sa masse ellipsoïde intracellulaire (saillies qui prennent l'aspect d'une mûre), et par différenciation progressive des embryons vermiformes. Dans cette phase de développement, la capsule globulaire s'amincit de plus en plus; dans sa cavité, une portion de la masse

granuleuse s'est déjà transformée en embryons falciformes, tandis que l'autre n'a pas encore varié. La vésicule affecte une forme sphérique, quoique j'aie observé parfois des cytocystes qui avaient gardé la forme ovalaire du globule sanguin en même temps qu'une bordure périphérique jaune assez large (capsule). La cavité interne, ovale, allongée, était entièrement bourrée d'embryons falciformes, sans qu'il restât le moindre vestige de la masse granuleuse. Les autres cytocystes étaient considérablement accrus; leur longueur était, notamment, de 0,025 à 0,030 mm. et leur largeur de 0,016 à 0,018 mm., ce qui les faisait surpasser de beaucoup les dimensions du globule sanguin. La capsule globulaire, uniformément mince, ne formait un certain renflement qu'au point d'inclusion de son noyau. La cavité est remplie d'embryons falciformes au nombre de 8, 12, 16; ces derniers occupent des plans méridiens longitudinaux comme on le voit communément pour les monocystidées et les coccidies dans la pseudonavicelle; mais la disposition de nos embryons manque de régularité; elle est en groupes de plusieurs, placés parallèment; ainsi les uns sont disposés en long, et les autres obliquement, ou même en travers.

Quant aux *embryons* eux-mêmes, ils présentent, à l'état jeune, une forme ovale allongée, pas toujours réguliere — (ainsi une des faces latérales peut se trouver légèrement concave). — On distingue, vers les extrémités des grains plus gros; la substance de l'embryon est grise mate, légèrement colorée par le bleu d'aniline. Par ses dimensions, l'embryon ne peut pas dépasser beaucoup celles du noyau d'un globule normal (environ 0,008 mm.). Dans la suite de leur croissance les embryons augmentent; ils prennent une forme vermiculaire, mais sont encore relativement courts: leur longueur ne dépasse pas 0,012 ou 0,014 mm; mais leur largeur pourrait peut être dès lors rapprochée de celle d'une hématogrégarine adulte et recourbée (0,004 mm. environ). On n'est, naturellement, pas sans trouver des embryons plus étroits qui occupent, paraîtrait-il, des cavités de moindre

étendue [1]). Le degré de différenciation de ces embryons est encore insignifiant et leur structure est des plus simples. Leur corps est entièrement constitué par une substance gris-mat faiblement granuleuse, assez transparente, peu réfringente, cette substance contient, surtout vers les extrémités, de 3 à 5 granulations plus grosses et brillantes. On n'aperçoit encore ni noyau, ni cuticule. Chez les embryons de grosseur plus considérable dont un des bouts est retréci, tandis que l'autre est obtus et arrondi, j'ai pu remarquer que les parties terminales refractent plus fortement la lumièro, sont quelque peu brillantes, et contiennent apparemment une substance plus dense (ces embryons ne sont pas sans quelque analogie avec les formes embryonnaires que j'ai trouvées dans les reins; V. plus haut). Il s'en faut cependant que cette particularité de leur structure soit toujours aussi accusée. Les embryons inclus dans le cytocyste sont *immobiles*; je n'ai jamais observé chez eux de mouvements spontanés. Mais il est fort probable que dans certaines conditions favorables les embryons adultes commencent à se mouvoir dans le cytocyste même, à l'instar de ce qui a lieu dans la pseudonavicelle; mouvement qui a pour résultat la rupture de la capsule et l'exode du parasite. Quelles sont les conditions favorables à ce phénomène? Quels sont les organes qui en sont le théâtre? Ces questions ne sauraient, provisoirement, trouver de réponse que dans des hypothèses. La mienne est que ce processus s'opère dans la moelle osseuse et en partie dans les reins, organes dans lesquels des cytocystes pourraient être entrainés par le courant sanguin.

Pendant l'été de 1886, au cours de mes études sur le sang des *lézards*, il m'a été donné d'observer un phénomène entièrement analogue. J'ai trouvé des cytocystes parfaitement semblables à diverses périodes de leur développement parfois avec un nombre considérable d'embryons falciformes (plus de

[1]) Voyez pour une relation analogue entre les dimensions de la spore et des embryons chez le lézard; *l. c.*, p. 339.

vingt). J'ai, d'ailleurs, l'intention de communiquer ultérieurement ces résultats avec tous les détails.

L'observation suivante que j'ai repetée plusieurs fois avec le même succès, pourrait servir de preuve indirecte à ce que je viens d'avancer. Si l'on appuie avec précaution sur la lamelle recouvrante de la préparation, on peut remarquer avant qu'aucune rupture ne se soit produite dans la capsule cystique, que les embryons, dans son intérieur, s'animent d'un *mouvement actif;* ils se contractent, et les mouvements, fort lents au début, augmentent peu à peu d'énergie. Dans aucun cas l'on ne saurait confondre ces contractions actives avec des contractions passives qu'entraînerait une violence mécanique. Ils en diffèrent tant par leur mode que par leur durée. Pour une durée de pression n'excédant guère 5 ou 10 secondes, les mouvements persistent pendant une période incomparablement plus longue, pendant des minutes entières. Un fait qui a une grande valeur, c'est en outre, que les mouvements actifs ne débutent que 2 ou 3 minutes après la fin de la pression, quand (si c'était l'élasticité seule qui en était la cause) l'équilibre mécanique à l'intérieur du cytocyste aurait eu amplement le temps de se rétablir.

Il est donc incontestable que la violence mécanique joue le rôle de stimulant qui réveille la contractilité active des embryons de grégarines; autrement dit, *leur protoplasma est doué d'impressionabilité envers les excitations mécaniques du dehors* (pression, serrement, etc.). Ainsi, outre la contractilité, le protoplasma est doué d'excitabilité, comme d'ailleurs, on devait s'y attendre. Je serais porté à croire que cette conclusion pourrait servir à la solution du problème: quelle est la cause qui détermine dans la spore adulte le mouvement spontané des embryons falciformes? La supposition la plus naturelle, — en dehors de tout mobile extérieur, — serait celle d'une *pression intracellulaire* qui réveillerait la contractilité active, ou, pour s'exprimer autrement, que l'excitabilité du protoplasma, augmentant avec la croissance, trouverait dans

cette pression une stimulation suffisamment énergique. Si l'on accentue la pression sur la lamelle recouvrante, on voit se former à un endroit quelconque de la capsule une rupture à travers laquelle les embryons commencent à sortir lentement pour se mouvoir en liberté dans le plasma. Cependant, au bout de 3 ou 5 minutes, la contractilité augmente, les mouvements deviennent plus énergiques et plus vifs, tout en restant néanmoins beaucoup plus lents que ceux des hémogrégarines adultes, et principalement que ceux du *Drepanidium ranarum*. Une quantité d'embryons sortent de la vésicule, mais il en est qui, doués d'une motilité plus faible, ne parviennent pas à s'en libérer. C'est, on le dirait, une sorte d'avortement qui a lieu dans ce cas! Les embryons falciformes ainsi délivrés sont relativement courts, vermiculaires, d'un gris à reflets bleuâtres; le noyau est invisible sans le secours des réactifs. Les *mouvements* consistent en flexions et extensions et en mouvements de progression en ligne droite, le bout rétréci en avant. Je n'ai observé, dans les contractions, aucun caractère amiboïde, en dépit des indications directes que l'on trouve dans beaucoup d'auteurs sur les modifications amiboïdes que présente la forme des corpuscules falciformes chez plusieurs grégarinidées (Coccidies). Je n'ai pas remarqué non plus de contraction sous forme de raccourcissement appréciable de la longueur du parasite avec épaississement correspondant du corps, phénomène qui, d'ailleurs, s'observe fréquemment chez les formes jeunes embryonnaires de grégarines. Quelques minutes après la sortie des embryons hors du cytocyste rompu, on voit apparaître sur leur corps des *étranglements transversaux* et annulaires (V. plus haut) qui cheminent lentement le long du corps d'avant en arrière; ces dépressions, quoique assez profondes, se déplaçaient néanmoins avec beaucoup plus de lenteur que chez la grégarine adulte et chez le *Drepanidium* de la grenouille et celui du lézard. Notons en outre que chez les embryons décrits on n'observe d'ordinaire qu'un seul étranglement, et ce n'est que dans des cas fort rares que deux de ces formations passent à la fois.

Ces faits démontrent de la façon la plus claire que ces embryons n'avaient pas encore atteint le terme de leur développement; c'était avant terme et par voie artificielle qu'ils avaient été placés dans des conditions de vie indépendante. Mais malgré cela il ne se passait pas 5 ou 10 minutes, et la formation ainsi que les mouvements des étranglements devenaient plus énergiques par degrés et à vue d'œil; les embryons circulaient librement entre les globules sanguins en les écartant, mais je n'ai jamais vu ces organismes percer les globules et les déchirer sur leur passage comme le fait le *Drepanidium* de la grenouille, muni, il est vrai, d'un bout antérieur plus effilé. En procédant à l'écrasement complet du cytocyste, il est facile d'observer séparément la capsule globulaire homogène et transparente avec son noyau.

Celui-ci présente une coloration sombre et un contour très prononcé, l'on dirait même double ; il contient un caryoplasma clair et transparent, légèrement granuleux, et un nucléole. En présence de l'aspect du noyau, on ne saurait se méprendre sur les altérations posthumes auxquelles il est déjà en proie.

Indépendamment des embryons de grégarines dont la description précède, j'ai eu l'occasion d'en voir dans la moelle osseuse, qui affectaient des dimensions de beaucoup inférieures (0,004 mm.). De forme allongée ces embryons sont munis d'un bout plus étroit que l'autre qui est large et obtus; leur substance est grisâtre, transparente; vers les extrémités on aperçoit des granulations brillantes, comparativement volumineuses; dans la partie dilatée gît un gros noyau. La grosseur de cet embryon parasitaire est sensiblement égale à celle du noyau d'un globule adulte; on en rencontre toutefois qui sont un peu plus grands ou un peu plus petits. La mobilité est faible; les déplacements sont très lents. On est, à n'en pas douter, en présence d'embryons très jeunes de grégarines issus d'un cytocyste rompu. Du reste, ces corpuscules sont rares et peu nombreux. Dans certains cas on rencontre des embryons encore plus jeunes,

présentant une largeur plus considérable et privés de tache nucléaire claire. Il est à supposer que l'état de liberté dans lequel ils apparaissent a été provoqué par quelque violence mécanique produite pendant la confection de la préparation, comme une déchirure au cytocyste, mais dans aucun cas par leur sortie spontanée hors de cette vésicule.

Par un rapprochement parallèle de tout les cytocystes et de tous les embryons que je viens de décrire on arrive aisément à conclure que toutes ces formations variées en représentent, à n'en pas douter, que les différents stades de développement d'une seule et même forme parasitaire — *Hemogrégarine*. — Quoiqu'il en soit, on ne saurait perdre de vue que le développement solitaire dans la cellule et la croissance simultanée dans la vésicule présentent des conditions biologiques différentes, dont l'étude exige des recherches ultérieures.

6. *Conclusions génerales et déductions.*

Après avoir exposé ainsi les données matériellees, puisées dans l'étude microscopique de la moelle osseuse des jeunes tortues, nous allons aborder la discussions des résultats acquis, au point de vue des questions les plus intéressantes. Nous examinerons d'abord celle du mode d'introduction du parasite à l'intérieur du globule sanguin, et nous rechercherons ensuite la façon dont s'opère son développement solitaire dans la cellule.

Les faits relatés plus haut attribuent au parasite un développement *solitaire* dans le globule sanguin; et la question qui surgit la première, c'est de savoir jusqu'a quel point ce phénomène concorde avec la définition de grégarine que nous avons appliquée à l'organisme qui nous occupe. On sait que les grégarines prolifèrent par *spores*, et, le plus souvent par spores multiples, — d'où leur nom de « sporozoaires » — ; leurs embryons falciformes ne se dispersent pas avant d'avoir atteint un certain degré de développement

(en dimension, structure, contractilité). On comprend que sous cet aspect, leur insinuation dans le globule sanguin est de toute impossibilité. Donc, comme je l'ai déjà indiqué dans l'article précedent sur l'hématozoaire du lézard [1]) le développement *solitaire* de la grégarine à l'intérieur du globule sanguin est un *phénomène anormal*. On pourrait, il est vrai, trouver une certaine analogie à ce fait dans le développement de l'embryons falciforme solitaire dans la spore du *Coccidium oviforme* du foie du lapin, par exemple (*Leuckart*).

J'ai déjà, dans cette étude, exprimé l'opinion que l'hypothèse de l'introductions directe dans le globule adulte d'un parasite dans une phase très jeune était inadmissible, même *a priori*. Il faut donc que chaque globule qui renferme dans son intérieur une hémogrégarine l'ait reçue de son générateur. On sait que les globules rouges proviennent des hématoblastes qui, eux, proviennent des leucocytes ou corpuscules lymphoïdes. Ces derniers sont doués de mouvement, ils exécutent des pérégrinations variées à travers les tissus de l'organisme ; ils viennent à contact intime avec le contenu des cavités en s'insinuant entre les cellules épithéliales, à l'intérieurs desquelles ils s'introduisent même ; de plus, ils ont la faculté d'englober les particules menues qu'ils trouvent sur leur chemin. En égard à toutes ces raisons, rien ne serait plus naturel que de supposer l'englobement des germes primitifs d'hémogrégarines par ces mêmes leucocytes ; englobement initial qui pourrait avoir lieu dans le canal digestif (intestins) ou dans l'appareil urinaire, ou enfin dans les voies biliaires, lymphatiques ; etc. Il ne faut pas, à ce sujet, perdre de vue que les grégarines parasitaires sont en état de s'insinuer dans l'épithélium, et même sous lui. D'autre part, nous avons déjà montré que les stades de transition entre les leucocytes et les hématoblastes manifestent encore dans la moelle osseuse la faculté d'émettre des pseudopodes et seraient encore, par consequent,

[1]) l. c.

aptes à englober des molecules dans leur substance. Munies autour d'un gros noyau, d'une masse de protoplasma relativement peu considérable, ces cellules ne peuvent s'approprier que les particules fort petites charriées par le sang et la lymphe jusque dans la moelle osseuse (remarque qui s'applique dans une certaine mesure aux corpuscules lymphoïdes). Mais, admettre ce deuxième procédeè, — ce deuxième moment pour mieux dire, — d'introduction du parasite, nous supposons implicitement l'introduction dans le sang, par une voie ou par une autre, de germes très minimes d'hématogrégarines, germes qui, même en très petit nombre, circuleraient avec ce liquide.

Toutefois, avant d'aborder la solution de cette question, il est nécessaire d'élucider la nature de ces *germes primitifs d'hémogrégarines*. Sous quelle forme sont-ils introduits dans les générateurs du globule sanguin?

Dans mon article sur les *Hématozoaires du Lézard*, j'ai émis l'hypothèse que le parasite était introduit, n'importe par quelle voie, dans le globule, sous la forme d'un sporoblaste mobile et menu, par exemple d'une dimension de 0,006 millimètre qui appartient au *Klossia soror (Aimé Schneider)*. Neanmoins, je suis aujourd'hui forcé de convenir que l'étude de l'hémogrégarine de la tortue, sujet d'étude plus avantageux, ne m'a pas fourni la confirmation matérielle de cette supposition. En dépit des observations soutenues que j'ai instituées avec de puissants objectifs, je n'ai pu démontrer avec certitude la présence de petits sporoblastes sphériques (dans l'acception d'*Aimé Schneider*) ni dans le sang, ni dans les générateurs du globule. De plus, il semblerait que la possibilité même de cette introductions est en désaccord avec leurs dimensions relatives (j'ai établi la comparaison entre la grandeur des sporoblastes de la vésicules du *Monocystis agilis* provenant du testicule du *Lumbricus* terrestre); et ceci d'autant plus que les embryons d'hémogrégarine sont contenus dans la couche mince de protoplasma des jeunes hématoblastes; or, la largeur de cette couche à l'endroit de la localisation visible

de l'embryon atteint au minimum de 0,001 à 0,002 millimètre. Ainsi, la dimension minimale de l'embryon visible au sein de l'hématoblaste, — autant que l'on peut distinguer les limites du premier, — peuvent aller jusqu'à 0,002 ou 0,003 millimètre de long sur 0,001 ou 0,002 millimètre de large. Une autre objection à cette hypothèse réside le fait que le sporoblaste protoplasmique serait exposé dans le leucocyte à la digestion intracellulaire dans le sens du *phagocytisme de Metchnikoff*. J'ai toujours considéré cette dernière circonstance comme étant de la plus haute gravité pour la détermination des propriétés du leucocyte en tant que phagocyte et véhicule par rapport aux germes parasitaires. Pour peu que les propriétés chimiques de ces germes en rendent la digestion intracellulaire pratiquable et facile, l'infection de l'organisme devient, de ce fait, irréalisable; si c'est le contraire, le germe parasitaire se maintient et conserve sa vitalité. Le développement du parasite restant stationnaire dans le leucocyte, ce qui découle de la non existence de *leucocytozoaires* correspondants chez la tortue [1]) — il est clair que la métamorphose progressive de ce corps, — transformation en hématoblaste puis en globule sanguin, — trouve ce germe parasitaire également apte à un développement ultérieur. De pair avec la transformation du protoplasma de l'hématoblaste et avec l'apparition de l'hémoglobine, de pair avec la perte par le leucocyte des propriétés phagocytiques et amiboïdes, s'engendrent de nouvelles conditions intracellulaires qui favorisent le développement utérieur de l'embryon. Le leucocyte vient-il à se soustraire à cette metamorphose progressive, le germe parasitaire s'arrête dans son développement et finit, sans doute, par succomber avec le temps. C'est ainsi que la transformation du leucocyte en globule sanguin préserve le germe parasitaire de la mort ou, pour le moins, d'un état stérile et stationnaire. Les globules sanguins ne font qu'offrir à ces germes le milieu le plus

[1]) Mais chez les oiseaux *Leucocytozoa* existent.

propice à leur métamorphose progressive; mais il est douteux que l'on puisse en faire un milieu « spécifique ». Si ces organismes, sortant du leucocyte, pouvaient s'installer dans un autre milieu, — dans un tissu quelconque, — où ils fussent aussi sûrement à l'abri de la destruction que dans les globules sanguins, ils s'y seraient probablement tout aussi bien développés progressivement.

Des considérations précédentes, il semble résulter que les *germes primitifs de parasite* dont il vient d'être fait mention, constitueraient une formation plus stable que les sporoblastes contractiles. J'ai déjà mentionné dans ma courte communication préliminaire [1]) que dans les globules sanguins l'on rencontre près du noyau de très petits corps en bâtonnets qui paraissent être des corps étrangers. Néanmoins, jusqu'à ce jour, je n'ai pas réussi à dévoiler leur rapport avec les hémogrégarines. Indépendamment de ces productions, j'ai eu assez souvent l'occasion de constater dans le sang des tortues la présence de corpuscules menus [2]) et flottants qui, par leur aspect extérieur, rappellent les germes parasitaires et sont, de plus, similaires aux grains ou vésicules de Monocystidées et de Coccidies. Ces germes supposés sont allongés, ovalaires ou fusiformes, à bouts rétrécis; leur substance est homogène, dense, — du moins en apparence, — fortement réfringente, brillante et de nuance jaunâtre: point de mouvement actif nettement visible; leurs mouvement oscillatoires sont, à n'en pas douter, de nature moléculaire. Leur longuers (0,002-0,004 mm.) égale sensiblement la largeur du noyau globulaire; on en trouve, néanmoins, de dimension moindre et d'aspect plus bacillaire. — Notons, à ce propos, que chez ces mêmes tortues on a trouvé des globules sanguins dont le noyau portait 2 ou 4 de ces corps étrangers dont il a été fait mention; leur grandeur, et jusqu'à un certain point leur forme, les rapprochaient des germes supposés; cependant

---

1) Arch. micr. Anat. l. c.

2) Voir le dessin. 57.

ceux-ci étaient fusiformes, tandis que les corpuscules prénucléolaires ont souvent une *apparence* bacillaire plus nette.— C'est surtout dans le sang des jeunes tortues que j'ai rencontrè ces germes. Chez l'une d'entre elles (de 10 cent. environ) j'ai trouvé un grand nombre de «germes» analogues de très petite dimension qui présentaient deux particularités: 1° les unes avaient leurs bouts rétrécis et effilés très fortement étirés; 2° chez les autres, de forme allongée à bouts plus obtus, les deux portions terminales semblaient brillantes, tandis que la portion médiane affectait une teinte plus claire et transparente. Indépendamment du parasitisme, la provenance de ces corpuscules comporte une autre explication; on pourrait notamment y voir des grains en bâtonnets appartenant au leucocyte et mis en liberté par l'écrasement des ces derniers corps qui se produit facilement pendant la confection de la préparation. Mais, dans la plupart des cas, la comparaison des deux genres de corpuscules dévoile suffisamment leur différence. On trouve cependant dans la moelle osseuse des jeunes tortues de gros corpuscules en forme de leucocyte, à l'intérieur desquels on distingue un noyau rond et une volumineuse formation centrale sphérique, quelque chose d'analogue à une vésicule [1]). Le tout est environné d'hyaloplasma qui manifeste un mouvement amiboïde énergïque traduit par l'emission et le déplacement de prolongements hyalins. C'est dans cet hyaloplasma, à côté de la vésicule centrale, que l'on trouve de 5 à 10 des «germes» fusiformes brillants et jaunâtres dont il a été question. Ils sont doués d'un mouvement moléculaire très intense; c'est de là qu'ils s'introduisent dans le plasma sanguin.

Sans m'engager, pour le moment, dans la solution prématurée de la question concernant les liens génétiques qui rattachent ces «germes», à l'infection par l'hémogrégarine, j'estime qu'il n'est pas inutile d'indiquer d'abord que des granulations analogues se rencontrent dans les vésicules des grégarines *(Monocystis)*. Quand, à l'intérieur du cystoplasma

1) Voir les dessins 43 et 44.

d'une grégarine encapsulée débute le phénomène de la sporulation, on trouve parfois, en écrasant cette vésicule, dans la couche externe, d'autres sporoblastes protoplasmiques volumineux, et plus à l'intérieur, une masse à grosses granulations dont la structure n'a pas encore été l'objet d'une étude précise. Il est hors de doute que les granulations, déjà connues, de grégarine primitive entrent dans sa composition; en outre, elle contient vraisemblablement une portion semiliquide et homogène. On ne saurait dire, jusqu'à présent, si cette masse subit ou non quelque modification physiologomorphologique pendant et après l'enkystement. Quoi qu'il en soit, cette masse représente évidemment une matière de formation pour les sporoblastes, et, à mon avis, elle doit être d'une importance considérable pour élucider le mode d'importation de l'infection par grégarines parasitaires.

Autant que j'en ai connaissance, on n'a pas, jusqu'à ce jour, donné d'explication précise du procédé d'après lequel les sporoblastes proviennent de cette masse granuleuse; on avance communément que ces corps apparaissent à la surface externe des masses sphériques granuleuses, — sous la capsule cystique, — comme des bourgeons de substance protoplasmique claire (*Lieberkühn*, pour le *Monocystis lumbrici*). Par contre, *Ruschhaupt* affirme que les sporoblastes prennent naissance dans la partie moyenne de la masse génératrice granuleuse près du noyau de la vésicule et principalement dans la substance finement granuleuse; ce n'est que dans la suite que les sporoblastes se déplacent — passivement — vers la périphérie. Les grains qui entrent dans la composition du sporoblaste jeune, encore dépourvu d'enveloppe, sont variés dans leur configuration et leur grandeur (*vorwiegend länglich oval*) et sont parfaitement similaires aux grains d'une grégarine adulte. On peut voir, après ces données, que c'est à la substance *granuleuse* que revient le rôle principal dans la sporulation. En examinant des vésicules de *Monocystis* (Lumbrici terrestris) pendant ce processus, j'ai rencontré de jeunes sporoblastes ronds composés de substance *hyaline* et d'un *petit nombre*

de grains de différente grandeur; je n'ai pas besoin d'ajouter que l'enveloppe manquait encore. A côté de ces sporoblastes, mais un peu plus en dedans, j'ai trouvé de gros amas sphériques formés de plusieurs *gros grains brillants*, à nuance jaunâtre, parfaitement homogènes et de forme ovalaire, ces grains représentaient comme grandeur le $^1/_4$ ou le $^1/_8$ᵉ d'un hématoblaste. Toute une série de questions surgit à propos de ces productions. Doit-on attribuer la formation des hématoblastes uniquement à des grains analogues issus de la masse génératrice du cytoplasma? Ces grains se fusionent-ils entre eux? Tous les grains de cette masse offrent ils des propriétés identiques? Et enfin, les grains isolés ou leurs groupes sont-ils aptes à engendrer des sporoblastes dans le cas d'un développement *libre, hors de la vésicule?* — Questions qui, avec d'autres analogues, attendent encore leur solution. Pour nous, c'est surtout la dernière qui nous intéresse. En effet, étant donnée la similitude de ces grains avec ceux que l'on trouve dans le plasma du sang, c' est là que nous pourrions trouver la clef du problème concernant non seulement le développement solitaire de l'hémogrégarine dans le globule sanguin, mais, en général, celui des autres grégarines hémocytozoaires de divers animaux. Nous pouvons toujours nous représenter que dans une région quelconque du canal intestinal ou des voies génitourinaires, une grégarine apportée du dehors peut s'enkyster (à l'instar du *Coccidium ovif.*, dans l'épithélium des canaux biliaires) et que pendant la sporulation, la cellule, — sous l'action d'une violence mécanique, par exemple, — vient à éclater en donnant issue au contenu «générateur» à grosses granulations. Ces dernières, englobées par les leucocytes, sont versées dans le torrent circulatoire, si elles ne s'y introduisent pas passivement par la voie des orifices et stomates, tant naturels qu'accidentels que leur offrent les revêtements épithéliaux et les parois des vaisseaux sanguins et lymphathiques des cavités viscérales, etc. Un processus analogue, *secondaire* cette fois, peut se reproduire dans la moelle osseuse et d'autres points de l'organisme. Je pense que cette hypothèse —

qui admet l'apparition spontanée dans le sang des gros grains brillants, déjà connus, provenant de la masse sporoblastique génératrice, je pense, dis-je, que cette hypothèse pourrait se prêter à une vérification expérimentale. Ajoutons à cela que les «*pseudonuclei*» (*Nebenkern*, d'après *Gaule*) des globules sanguins chez la grenouille et chez certains poissons, — formations qui sont en relation la plus intime avec le développement des cytozoaires, — affectent par leur aspect de la ressemblance avec les grains mentionnés, issus du cytoplasme, ou, ce qui revient au même, du sporoplasme. Cette considération attacherait aux recherches poussées dans cette direction un caractére d'urgence encore plus grande. Il ne faudrait cependant point perdre de vue, comme je l'ai d'ailleurs indiqué plus haut, que les propriétés physiologiques du sang comme milieu nutritif peuvent exercer une influence activement modificatrice sur la marche normale de la métamorphose de ces sporozoaires; ce qui fait qu'une culture dans le sang vivant pourrait donner des résultats qui ne *s'observeraient pas* communément pour le développement naturel ou pour des cultures artificielles d'un autre genre [1]. Cette influence du sang est particulièrement manifeste dans les observations sur la multiplication des *Trypanosoma* de la grenouille, de l'oiseau et de la souris. Si l'on procède à leur culture dans un mélange artificiel d'une autre nature, la multiplication n'a pas lieu, ou n'arrive pas à une évolution complète, ou enfin, prend une voie anormale [2].

---

1) Le parallèle suivant est fait pour montrer une influence analogue des conditions ambiantes: dans le sang et la moelle osseuse, la prolifération et le développement des embryons de grégarines a lieu en toute au sein d'une cytospore, formée par la masse délicate, mollement élastique du globule sanguin; dans les autres tissus et organes, au contraire, ce processus a lieu à l'intérieur de la pseudonavicelle ou de la psorospermie, dont l'enveloppe est très resistante. Elle résiste à l'action de l'alcool et de l'acide chromique pendant des mois entiers! *Leuckart* affirme que dans ces liquides de conservation la métamorphose progressive dans les spores peut même se poursuivre un certain temps.

2) Ces faits seront publiés dans la 3-me partie de cette „Parasitologie comparée du sang".

On est ainsi autorisé à admettre, par hypothèse, que les corpuscules fusiformes brillants dont il s'agit, et qui flottent librement dans le sang, sont des productions parasitaires analogues, (si ce n'est même congénères), aux grains similaires du contenu sporoblastique générateur de la vésicule grégarinaire [1]). Nous admettons en même temps que ces mêmes germes sont introduits à l'intérieur du leucocyte (et peut-être de l'hématoblaste) où ils subissent solitairement une métamorphose progressive, pendant la transformation de ces cellules en globules sanguins parfaits. Quoique je n'aie pas observé dans les hématoblastes de ces gros grains fusiformes et brillants, cela ne saurait ébranler notre hypothèse, car les propriétés du germe parasitaire supposé ont pu se modifier pendant son séjour dans le leucocyte.

Généralement parlant, la recherche des germes parasitaires primitifs au sein des éléments cellulaires, n'est pas sans présenter de grosses difficultés, même s'il s'agit de formes stationnaires de cellules. *Leuckart*, entre autres, s'est heurté à des difficultés semblables dans la recherche des embryons de *Coccidium ovif.* dans les cellules épithéliales des voies biliaires chez le lapin. Les formes embryonnaires intracellulaires les plus petites qu'il ait rencontrées se présentaient sous l'aspect d'un sphérule protoplasmique faiblement granuleuse, d'une dimension qui atteignait déjà 0,010 millimètre, munie d'un assez gros noyau clair avec un nucléole; ce germe était dépourvu d'enveloppe propre. Il est évident que cet embryon correspond à la pseudovacuole du globule sanguin; mais il *n'est pas* la forme primitive qui, elle, — vraisemblablement, — présent des dimensions encore moindres et une structure encore plus simple.

Quoiqu'il en soit, il reste hors de doute que *le développement des hémogregarines est isolé*, *intracellulaire*, et

1) Pour éviter toute équivoque, je crois utile de remarquer, que sous ces grains il faut toujours entendre un corpuscule *protoplasmique*, à savoir une *particule du cyto- ou sporoplasma.*

s'opère dans les hématoblastes en partant des germes extrémement petits. Dans toutes les phases du développement, de la génération et de la métamorphose des sporozoaires, ce n'est qu'au milieu de la masse sporoblastique génératrice granuleuse que nous rencontrons des éléments menus analogues qui, par leur taille, correspondent aux embryons grégariniques trouvés dans les jeunes hématoblastes ainsi que dans le plasma sanguin. (Dans l'acception indiquée, la signification des éléments générateurs du *cytoplasma* et du *sporoplasma* a la même valeur pour notre hypothése). Du reste il va de soi que pour se produire, le tableau d'un parasitisme aussi généralisé n'a pas besoin que la voie indiquée pour l'introduction de l'infection prenne, chez la tortue, des proportions étendues ou s'ouvre à plusieurs reprises. Le fait est que dans la moelle osseuse, nous avons observé des phénomènes de prolifération de l'hémogrégarine chez les sujets jeunes, parallelemant à la réduction de la masse de la moelle osseuse; avec l'âge la prolifération du parasite diminue de son côté; c'est ce qui me fait présumer que chez les sujets vieux le nombre des parasites intracellulaires doit rester stationnaire.

Quant à la *destinée ultérieure du germe de Grégarine* [1]) dans le globule sanguin, elle est facile à comprendre: de pair avec la croissance et la transformation de ce globule, s'avance l'accroissement du parasite, si bien qu'à l'intérieur dés hématoblastes à peine jaunàtres, pyriformes et fusiformes.

1) Pour la solution de la question de l'embryon primitif d'hémogrégarine et de sa genèse, une importance de premier ordre doit être attachée à l'assertion de *Rivolta*. Cet auteur avance qu'au sein de la spore du *Coccidium* on voit se développer des embryons authentiques—*micrococci psorospermici*— sous la forme de petits corpuscules brillants. Ils sortent de la spore, présentent des mouvements amiboïdes, croissent et se multiplient par segmentation; ils sont aptes à s'insinuer dans l'épithélium.—Je regrette de n'avoir eu connaissance des résultats de *Rivolta* que d'après *Bütschli* (*l. c.*) il m'a été impossible de me procurer le travail original et c'est pourquoi je n'ai pu profiter de ses données pour cette étude. Il est de haute importance que l'embryon des grégarines hématozoaires corresponde au stade *micrococci psorospermici*.

le parasite prend bientôt l'aspect d'un vermicule clair ou d'une pseudovacuole moins bien différenciée. Jamais cependant on n'a rencontré de grandes hémogrégarines adultes dans de semblables hématoblaste. D'autre part, dans les globules sanguins, surtout dans les jeunes à forme plus arrondie, on voit plus souvent de jeunes stades d'hémogrégarine sous l'aspect de petits vermicules ou de pseudovacuoles ovales arrondies. Par contre, les hémogrégarines adultes, vermiformes, situées dans toute la longueur du globule, et *a fortiori* celles qui sont munies d'étranglements, se retrouvent principalement dans les globules adultes elliptiques.

C'est donc dans cette période d'existence intracellulaire que se déroulent pour l'hémogrégarine les stades de germe primitif, d'embryon ou pseudovacuole, de corpuscule falciforme et, enfin, le stade adulte et mobile. Ces données mettent ainsi en pleine lumière le fait, sur lequel j'ai déjà attiré l'attention, de la simultanéité et du parallélisme qui préside au développement du parasite et du globule sanguin. On n'est pas, il est vrai sans rencontrer des globules adultes et elliptiques contenant des stades très jeunes du parasite, mais ce phénomène est comparativemen très peu fréquent. Il faut néanmoins convenir que, même dans ces conditions, la croissance du parasite se poursuit sans encombre; c'est que la substance globulaire étant elle-même consommée pour les besoins de la masse croissante de l'hémogrégarine, la résistance intracellulaire est, par ce fait, réduite au minimum.

Ainsi, sous ce rapport encore, l'hémogrégarine se dérobe d'une façon remarquable à la marche régulière du développement des Monocystidées et des Coccidées. En effet, chez ces grégarines la masse du sporoblaste ou le sporoplasma, en qualité de *matière spécifiquement nutritive et génératrice*, est consommée *dans sa totalité* pour suffire à différenciation simultanée des embryons falciformes (à l'exception du noyau de reliquat d'*Aimé Schneider*). Ces derniers, formés tous d'un coup par ce procédé, accusent dès le début une longueur plus ou moins considérable. L'hémogrégarine, au contraire, *s'accroît*

à l'intérieur du globule sanguin à partir du germe imperceptible jusqu'à sa taille maximale; et de plus, *l'hémogrégarine s'accroit aux dépens d'une matière nutritive parfaitement étrangère.* C'est là que se concentre la signification particulièrement remarquable, au point de vue biologique, de ce mode de développement intracellulaire isolé de l'hémogrégarine dans un milieu *hétérogène.*

En général, les rapports et les affinités entre le développement du globule sanguin et celui de l'hémogrégarine qu'il recèle consituent une question du plus haut intérêt qui n'est pas sans influer sur celle des propriétés bioplastiques générales des globules du sang. Nous constatons, en effet, qu'en dépit du parasite auquel ils donnent abri, la croissance de ces éléments à partir de l'hématoblaste suit son cours avec la même régularité et la métamorphose progressive n'en est nullement troublée. Le globule rouge atteint ses dimensions normales; sa substance, de mate et granuleuse, prend un aspect demi-transparent et homogène; l'hémoglobine se constitue; il acquiert sa consistance gélatino-élastique, son noyau rond et gros prend une forme ovale et une grosseur relativement moindre, etc. Et, fait dont l'intérêt est capital, cette forme, régulièrement elliptique, s'établit dans toute sa régularité, malgré le parasite relativement volumineux qui occupe son intérieur. On a déjà vu plus haut les cas de globules rouges contenant un gros parasite adulte et même deux jumeaux; toute minime que soit alors la masse qui reste de la substance propre du globule, ni la forme elliptique, ni les propriétés de ce corps ne dévient aucunement de la normale: *la présence de parasites en croissance n'ont pas altéré la bioplastie du globule sanguin en croissance.* L'explication la plus simple que l'on puisse donner de ce fait serait, vraisemblablement, d'admettre pour le parasite un développement postérieur à la période ou le globule atteint sa croissance définitive. Mais les données déjà mentionnées viennent infirmer cet hypothèse. Nous sommes donc forcés d'adopter, comme présentant le plus de vraisemblance, une *croissance simultanée pour les deux: globule*

et parasite. Toutefois, on s'avancerait trop si l'on voulait ériger en règle un parallélisme complet: il arrive en effet de trouver dans des globules adultes des stades très jeunes d'hémogrégarines, et, inversement, des globules jeunes contenant des parasites assez volumineux (cas rare). Dans la dernière éventualité on doit admettre que la croissance de l'hémogrégarine suit une marche plus rapide que le développement de l'hématoblaste; si malgré tout cet élément arrive à atteindre la forme et les propriétés du globule *adulte*, ce n'est qu'un argument de plus en faveur de l'énergie bioplastique considérable dont est doué cette cellule. En dépit de la présence dans sa partie centrale d'un parasite volumineux en pleine voie d'accroissement, en dépit du déplacement de son noyau et de l'équilibre mécanique intracellulaire gravement compromis, la masse annulaire périphérique du globule n'en continue pas moins à croître et à suivre son développement progressif, jusqu'à la forme typique achevée. Les conditions sont-elles inverses, et un globule adulte est-il le théâtre du développement tardif d'un parasite, il en résulte alors la *diminution de la masse interne propre du globule, aux dépens de laquelle augmente la masse du parasite en croissance*. Quant à l'hémoglobine, tout ce que l'on sait d'une manière certaine, c'est qu'elle ne subit pas de métamorphose régressive; du moins il ne se produit pas de mélanine dans le globule (production qui, au contraire, a lieu dans les mêmes conditions chez les oiseaux ainsi que chez l'homme dans l'infection paludéenne).

J'ai déjà eu l'occasion de dire que le *noyau des globules*, est loin de présenter les altérations morphologiques (monstruosités) que l'on retrouve à un degré si marqué dans des circonstances analogues chez le lézard. Chez la tortue, en effet, tout se borne au déplacement latéral du noyau, et ce n'est que dans des cas rares que l'on observe une compression, un rétrécissement de cet organe. Il n'est pas sans intérêt de remarquer que de forts déplacements du noyau se rencontrent même chez les hématoblastes et les microcytes, sans que pour

cela la croissance de ces cellules s'arrête avant d'avoir atteint sa limite normale. Ainsi la lésion mécanique, et sans doute également physiologique que subit le noyau n'apporte aucune entrave manifeste à la bioplastie du globule sanguin en voie de croissance. Ne pourrait-on pas trouver, dans ce fait, un argument pour établir que le noyau cellulaire ne joue aucunement dans l'espèce, le rôle de centre fondamental des forces histogénetiques de la cellule? Tout essentiel que soit le noyau dans les phénomènes de multiplication de la cellule, la croissance et le développement ultérieur de celle-ci peut, en revanche, se dérouler d'une façon plus indépendante de l'influence de cet organe.

Un intérêt prépondérant dans la question des rapports de croissance entre le globule sanguin et son parasite, s'attache au cas de parasitisme double, quand, à l'intérieur de cet élément sanguin trouvent place deux hémogrégarines à la fois. Quand les *deux parasites* sont de même dimension et partant *du même âge*, rien n'est plus simple que l'explication de cette dualité: le jeune hématoblaste, au lieu de recevoir de son générateur, le leucocyte, un seul germe parasitaire, en reçoit deux simultanément. Les deux ont une croissance parallèle, déplacent fortement le noyau et atteignent la forme adulte ordinaire. Mais dans le cas où les deux parasites sont *d'âge différent*, le problème de leur genèse devient plus compliqué. L'un des parasites se trouve encore dans la période de pseudovacuole de petites dimensions, pendant que son cohabitant affecte déjà l'aspect d'un vermicule assez gros d'une longueur double ou triple; ou bien un des deux parasites est à l'état de vermicule à extrémités encore granuleuses, tandis que l'autre est déjà adulte, porteur d'un étranglement annulaire, et ainsi de suite. Si le noyau est resté enclavé entre les deux parasites, on le trouve amoindri par la pression, fortement aminci. Je dois, toutefois, faire remarquer que je n'ai jamais rencontré de parasitisme double avec désaccord maximal entre les âges; ainsi, pour un parasite déjà adulte et à étranglement,

il y en avait un autre sous forme de pseudovacuole très petite. Deux explications sont seules plausibles pour les cas précités: d'abord, les deux germes auraient pu être englobés par le «leucohématoblaste» simultanément, mais quelle qu'en soit la cause, l'un d'eux a eu, dans son développement ultérieur, une croissance plus lente que l'autre. D'après l'autre explications, on admettrait deux époques différentes pour l'entrée de chaque germe dans le globule sanguin (ou son générateur). L'un des deux germes aurait eu le temps de subir une adaptation physiologique aux nouvelles conditions de son habitacle ; il est entré en échange biochimique avec le protoplasma de l'hématoblaste et a commencé à croître. C'est alors qu'un nouveau germe d'hémogrégarine a été introduit. Ces deux explications sont douées l'une comme l'autre d'un degré considérable de vraisemblance et concordent avec les faits. Bien moins plausible serait l'hypothèse d'une division du germe en croissance, d'une espèce de bourgeonnement, etc.; explication qui a précisément été proposée par *Waldenburg* et *Rivolta* pour le cas de parasitisme multiple dans la cellule épithéliale (germes de *Coccidium ovif.*). *Leuckart* a même trouvé de ces embryons (jusqu'à 5 - 6 dans la même cellule !) d'âge différent, c'est-à-dire de différente taille. Le point par lequel cette troisième explication, quant à sa vraisemblance, cède le pas aux autres, c'est l'absence d'indications expérimentales sur la division des embryons parasitaires de grandeur minimale. (J'ai déjà dit pourquoi je suis hors d'état de me prononcer sur l'appui que pourrait trouver la troisième explication dans les données de *Rivolta* sur la division de ses *micrococci psorospermici.*)

Nous n'avons plus, maintenant, qu'à examiner la question *de la durée du développement et de la vie de l'hémogrégarine dans les globules sanguins*. Quant à la croissance, des observations minutieuses n'ont permis, pendant plusieurs jours, de ne constater aucune augmentation sensible de la longueur de jeunes parasites dans mes cultures capillaires.

La croissance de cet organisme suit une marche très lente, ce dont on n'aurait du reste pas pu douter, même *a priori*, quoique rien ne soit plus difficile que d'en établir la preuve par mensuration directe du même parasite. Cette manipulation exigerait une culture capillaire [1]) où ce maintiendraient invariablement pendant des semaines et des mois les propriétés vitales du sujet. Quoi qu'il en soit, en se basant sur l'analogie seul avec le développement des autres parasites sporozoaires (par exemple les coccidées) on est forcé d'attribuer aux hémogrégarines un développement fort lent. Cette déduction est encore corroborée par la comparaison de nos parasites chez les tortues jeunes et chez les vieilles dont la moelle osseuse est arrivée, par atrophie, au minimum de son activité génératrice. En outre, une considération qui s'impose, c'est que *pendant l'hiver le développement et la prolifération des hémogrégarines sont probablement interrompus entièrement.* (Une observation analogue a été instituée sur les Trématodes parasitaires dans les branchies des poissons, ainsi que sur le *Distoma* de la chauve-souris pendant le sommeil hibernal. — *Ed. van Beneden.*)

Mais ces déductions ont encore leur côté intéressant au point de vue des *globules sanguins;* ces organes sont désormais loin d'être les cellules aussi friables, à existence aussi éphémère que les représentaient certains histologistes. Tout au contraire, malgré la présence intracellulaire du parasite le globule n'en continue pas moins à vivre des mois entiers, gardant plus ou moins intactes ses propriétés histophysiologiques et sans subir de dégénérescence (ce qui, au contraire, se voit chez le lézard). Cette stabilité, cette force de résistance des globules sanguins n'est pas le privilège exclusif des vertébrés à sang froid; on observe les mêmes propriétés chez les oiseaux par rapport aux hématozoaires. Le parasite, par sa présence, constitue au globule qui le contient, un insigne, une

---

[1]) Voir mon article „les cultures capillaires" dans les Archives slaves de Biologie 1886. Janvier.

sorte *de marque distinctive* qui permet de l'observer pendant un temps assez long; condition fort importante, notamment dans le cas où la production des hémo-cytozoaires, autrement dit leur génération et leur introduction dans les hématoblastes n'a plus lieu, par exemple, dans l'âge senile, dans des conditions expérimentales artificielles, etc.

La présence du parasite intracellulaire ne porte pas d'entrave à la continuation par le globule de sa fonction physiologique par rapport à la respiration des tissus, en tant que le globule a conservé de l'hémoglobine active. Mais la métamorphose chimique propre à la substance du globule doit être relativement très faible, si l'on considère la contenance colossale d'hémoglobine. Ce qui prouve que sous le rapport et pendant tout le temps de la croissance et du développement du parasite le globule sanguin lui offre un habitat des plus favorables.

Jusqu'à présent nous n'avons pas encore abordé la question *des modes d'introduction de la grégarine parasitaire* dans le corps même de la tortue. Mais comme je n'ai, malheureusement, pas fait de recherches dans cette direction, je suis réduit à me borner à de simples conjectures. Des trois voies concevables pour cette introduction — voie pulmonaire, genito-urinaire et digestive, — la dernière, on en conviendra sans peine, est la plus vraisemblable. Nous avons, comme preuve à l'appui, l'analogie de la contagion chez beaucoup d'autres animaux (sporozoaires). Cette voie une fois admise, il nous est désormais facile de tracer la suite, le trajet du parasite (adulte, ou plus exactement de ses embryons) à travers les enveloppes épithéliales jusqu'aux vaisseaux lymphatiques et sanguins. C'est ce qu'en effet ont montré les recherches de ces derniéres années: les leucocytes, passant dans les interstices des cellules épithéliales, entrent en contact immédiat avec le contenu du canal intestinal.

De leur côté, les *sources de contagion* sont généralement abondantes: quantité d'animacules (insectes, myriapodes, etc.), qui servent de pâture à la tortue, contiennent des grégarines parasitaires dans leur corps (Moncystidées *stricto sensu* et

Coccidies). Par exemple, les vaisseaux de *Malpighi* du *Glomeris* donnent abri à l'*Eimeria nova* (*Aimé Schneider*), parasite fort proche de notre *Hémogregarina Step.* L'*Eimeria Schneideri* habite l'épithélium intestinal du *Lithobius;* enfin, chez les poissons et les grenouilles *Eimer* signale des coccidées, analogues à l'*Eimeria falciformis* (de la souris domestique); chez les crapauds *Grassi* a trouvé des Coccidies (*Rivolta*); quelques parasites de ce genre habitent l'*Hélix limax;* même chez les chrysalides d'insectes, on a trouvé des grégarines, etc. — Bref, si une hémogrégarine identique à la nôtre n'a pas encore été découverte chez ces animaux, en revanche, les formes alliées (Coccidies) ne font pas défaut.

EXPLICATION DES FIGURES.

Fig. 1. — Hémogrégarine adulte au sein d'un globule rouge; le noyau du globule est refoulé en bas; la grosse extrémité du parasite est homogène.

Fig. 2. — Parasite adulte; on aperçoit le nucléole.

Fig. 3. — Hémogrégarine entourée d'une fissure; le noyau du globule rouge est difformé et allongé.

Fig. 4. — Sur le côté du parasite, à l'intérieur de la cavité, on voit un corpuscule arrondi, (par erreur, le noyau du globule est figuré trop petit) ; les fig. 3 et 4 montrent la formation du deuxième article du parasite.

Fig. 5. — Parasite adulte dans la dépouille d'un globule rouge (pseudo-capsule).

Fig. 6-9. — Locomotion du parasite par étranglements transversaux; modification de la forme du noyau à la suite de cet étranglement.

Fig. 10. — Hémogrégarine fixée pendant la locomotion en spirale.

Fig. 11-16. — Périodes successives de l'excapsulation; dans les fig. 11, 12, 13 et 14, la mince pellicule qui recouvre le parasite n'est pas colorée; mais dans les fig. 15 et 16, ce sont les rides et les plis du globule rouge qui masquent la couleur grise de l'hémogrégarine. — Fig. 15 et 16 ; — Sortie du parasite du globule rouge.

Fig. 17. — Hémogrégarine épaisse et droite, avec un gros noyau et un nucléole; correspond à l'hématozoaire *(a)* des lézards.

Fig. 18. — Parasite analogue, avec plusieurs noyaux. (Anomalie).

Fig. 19. — Commencement de la formation d'un deuxième article chez le même parasite.

Fig. 20. — Séparation spontanée du zooïde et de l'okoïde; le premier est sorti sous forme d'aiguilles; le jeune parasite est resté immobile dans le stroma du globule rouge.

Fig. 21. — Forme monstrueuse (par involution) d'une hémogrégarine provenant du sang d'une tortue épuisée.

Fig. 22. — Parasite jeune et à grosses granulations.

Fig. 23-24. — Jeunes parasites vermiculaires; le noyau n'est pas visible; cette forme semble correspondre par son aspect au parasite *(b)* des lézards; fig. 23, le parasite est de couleur grise.

Fig. 25. — Forme analogue d'hémogrégarine avec un noyau distinct.

Fig. 26-30. — Stade jeune d'hémogrégarine; dans les fig. 26 et 29 elle a l'aspect d'une pseudovacuole; dans la fig. 30, les limites du parasite sont très peu distinctes; le noyau est apparent dans les fig. 27, 28. 30.

Fig. 31-34. — Double parasitisme intra-cellulaire. Les parasites sont d'âge différent (fig. 32-33); dans la fig. 33, le noyau du globule est serré entre les parasites.

Fig. 35. — Microcyte arrondi avec un parasite très jeune.

Fig. 36. — Microcyte ovale contenant une hémogrégarine plus âgée, dont les limites se confondent encore optiquement avec la substance du globule rouge.

Fig. 37. — Hématoblastes fusiformes contenant des embryons de parasite; en *(b)* les limites du parasite sont vagues.

Fig. 38. — Hématoblastes plus jeunes (a un fort grossissement); coloration hémoglobique encore incomplète; en *(b)*, la substance du parasite se confond encore avec le protoplasma du globule sanguin.

Fig. 39. — Hématoblastes encore plus jeunes; la coloration hémoglobique est à peine apparente en *(a)*; le globule *(b)* a encore l'aspect d'un globule lymphatique ou d'un leucocyte. L'embryon du parasite a l'aspect d'une masse diffuse et à grosses granulations.

Fig. 40. — Hémogregarine avec deux micronuclei; on voit le commencement du processus de formation d'un deuxième article (comparez les fig. 3, 4, 18 et 19).

Fig. 41. — Hémogrégarine adulte morte, (à un fort grossissement; le noyau est trop petit sur le dessin).

Fig. 42. — Globule rouge modifié, contenant un parasite, après l'action du chloroforme; le parasite est entouré de l'okoïde; à côté de lui se trouve le noyau du globule sanguin; le zooïde; est détruit.

Fig. 43-44. — Corpuscules composés pseudoleucocytes provenant de la moelle osseuse; la substance hyaline périphérique est très mobile et émet de larges prolongements en spatule qui changent rapidement.

Fig. 45-46. — Formes intermédiaires des corpuscules lymphatiques et des hématoblastes brovenant de la moelle osseuse; *(b)* et *(c)*, fig. 45, formation de larges pseudopodes mobiles dans le plasma hyalin; en *(b)* et *(c)*, fig. 46, on voit se former un dépôt d'hémoglobine (faible grossissement).

Fig. 47. — Vésicule parasitaire (sporozoïque) provenant de la vessie de la tortue.

Fig. 48-50. — Cytocyste (ou cytospore) avec des embryons de parasites; dans les capsules globulaires on aperçoit le noyau du globule (fig. 48,

49-a); dans la fig. 48, ce noyau est fortement comprimé aplati; les embryons falciformes sont immobiles.

Fig. 51. — Psorospermie du globule rouge. L'hémogrégarine présente la forme typique d'une Coccidie intracellulaire avant la segmentation; le parasite est depourvu de capsule propre.

Fig. 52. — Début de la segmentation; la masse parasitaire affecte la forme d'une framboise.

Fig. 53. — Cytocyste avec de très jeunes embryons *(b)*; les embryons séparés ont été obtenus par écrasement de la vésicule; ils ne sont pas encore mobiles.

Fig. 54. — Cytocyste (fig. 49) écrasée; *(a)* — noyau dans la capsule globulaire.

Fig. 55. — Embryons falciformes, mobiles, avec étranglement transversaux (comparer les fig. 6-9) provenant de la vésicules (fig. 54) écrasée; formes prises à divers moments du mouvement.

Fig. 56. — Embryons grégariniques provenant de la moelle osseuse (probablement d'une vésicule écrasée); *(c)* — fort grossissement; les noyaux sont très apparents.

Fig. 57. — Corpuscules libres dans le sang. Comparer les fig. 43 et 44.)

Fig. 58. — Spores de *Myxosporidium*, ou psorospermies provenant des reins de la tortue; *(c)* de face, *(d)* de profil.

Nota — On a donné dans le dessin, des dimensions *trop petites* aux noyaux clairs, vésiculaires des hémogrégarines dans les fig. 1, 2, 5, 32 et 34. — Dans les fig. 35, 36, 56 et 57, j'ai placé des globules sanguins normaux en regard pour permettre de juger des dimensions relatives (la longueur moyenne du globule sanguin de la tortue égale 0,023 mm.).

Les dessins sont exécutés à des grossissements variés.

Observations sur une monade (Hexamitus), parasite du sang.

La présence dans le sang de monades vivant en parasites est un fait très rare. Jusqu'a présent personne n'a observe d'*Hexamitus* (*Dujardin*) dans le sang. On le rencontrait, comme entozoaires, seulement dans le canal intestinal des lézards surtout.

J'ai eu l'occasion, dans le cours de mes recherches hématozoologiques, de rencontrer cette monade dans le sang des tortues (*Emys lutaria*) et de la grenouille (*Rana esculenta*).

Presque tous ces animaux étaient dans un état d'amaigrissement et de très mauvaise nutrition; quelques-uns avaient passé l'hiver dans le laboratoire. Dans le sang des animaux bien portants et pris récemment, je n'avais jamais rencontré cette monade.

A l'autopsie de ces tortues, dans le sang desquelles on avait trouvé cette monade pendant la vie, mais de peu temps avant la mort, on constatait un amaigrissement considérable, une transsudation abondante dans la cavité abdominale, et parfois un état œdémateux des muscles, etc.

Le sang de ces tortues, pris encore pendant la vie avec de certaines précautions, à l'état pur, contenait un nombre immense de monades très mobiles, ayant quatre tentacules

mobiles antérieurs (*flagella*) et deux postérieurs longs et immobiles.

Dans d'autres cas on voyait dans chaque champ visuel du microscope (*Hartnack* Obj. 8 Ocul. 3), trois, cinq monades et plus encore.

Elles se frayaient evec force un chemin entre les globules sanguins, les arrachaient et les entraînaient. Le même phénomène s'observait dans le sang pris directement du cœur à l'aide d'une piqure faite dans sa paroi. La lymphe contenait aussi beaucoup de ces monades. Il est intéressant de faire observer qu'un mois et demi à deux mois avant la mort de l'animal, le sang ne contenait pas de monades.

L'urine, prise directement dans la vessie, contenait des *Hexamitus*, mais en moins grand nombre que le sang.

La bile, épaisse, vert foncé, ayant une réaction nettement alcaline. prise directement dans la vésicule biliaire. contenait aussi des monades, à mon grand étonnement. Chez une tortue leur nombre était même plus grand que dans le sang; elles étaient d'une grandeur considérable et très mobiles.

Chez d'autres tortues, la bile renfermait un moins grand nombre de ces parasites que le sang. Il est nécessaire d'ajouter qu'il n'y avait aucune trace de mélange du sang à la bile.

Enfin, on a trouvé dans tous les cas un grand nombre de monades dans les *transsudations abdominales* et même dans le liquide provenant de *l'œdème du tissu cellulaire.*

Partout la forme de cette monade était la même; elle correspondait complètement aux *Hexamitus Duj.* D'après *Bütschli*, elle se rapporte aux *Flagellata Isomastigoda*, famille des *Polymastiginia*. C'est une simple formation protoplasmique incolore, avec noyau et vacuole contractile, et avec les six flagella décrits plus haut. Cet organisme vit aussi à l'état libre comme parasite dans le canal intestinal des tritons, des grenouilles, des lézards, des tor-

tues [1]). Les flagella antérieurs sont très mobiles. La monade s'en sert comme de rames et se déplace avec une grande rapidité même dans la bile épaisse. Les flagella postérieurs, immobiles, sont traînés passivement; il sont rectilignes, très longs, trois à cinq fois plus longs que le corps de la monade. La grandeur de la monade est variable; sa forme aussi; les unes sont plus ovales, les autres plus rondes. Ces différences dépendaient principalement de l'âge de la monade et des conditions de sa nutrition. Les *Hexamitus* découverts par moi n'avaient pas de *membrana undulosa:* mais, en revanche, on pouvait bien observer des mouvements ondulatoires très énergiques de tout le corps de la monade. Des on des assez profondes et rapides traversaient tout le corps en commencant par le bout antérieur et en se dirigeant vers la partie postérieure.

Tout le corps de la monade en mouvement présentait une série de rétrécissements ou étranglements fugitifs qui parcouraient le corps d'un bout à l'autre. et qui étaient accompagnés d'un certain tremblement de tout l'organisme.

Dans les préparations de *sang*, après 24 heures, le nombre des *Hexamitus* semblait augmenter; mais leurs mouvements, surtout ceux de propulsion en avant, étaient un peu affaiblis. Il est remarquable que, dans les préparations de *bile*, après 24 heures, les monades semblaient tout aussi mobiles que dans la bile fraîche. Elles semblaient même plus vives que dans les préparations de sang. Quelques-unes de ces monades (dans la bile) contenaient à leur partie postérieure plusieurs petites granulations colorées en orangebrun (provenant du pigment biliaire?).

Après 48 heures on trouvait dans la bile de grandes monades arrondies, mais déjà presque immobiles. Même à de très fort grossissements, on ne pouvait voir la paire des tentacules postérieurs. Presque dans chaque monade, des

1) La monade trouvée dans le sang ressemblait plutôt à l'*Hexamitus intestinalis* (Stein).

granules et de grandes vacuoles se sont formés. Evidemment la désintégration de l'organisme commençait.

Dans le *sang* conservé en des tubes capillaires aplatis, en verre, soudés aux deux bouts [1]), on trouvait des *Hexamitus* vifs et trés mobiles, même le septième jour. J'ai vu dans un de ces tubes capillaires une monade encore toute vivante après 12 jours!

J'ai aussi trouvé des *Hexamitus* dans le *sang de grenouilles qui avaient hiverné dans le laboratoire.* Du reste, ces grenouilles faisaient exception; sur cent, il s'est trouvé quelques individus seulement qui en étaient atteints. La monade du sang de la grenouille était un peu plus petite et visiblement plus allongée que celle de la tortue. De plus, les tentacules postérieurs n'étaient pas aussi longs. comme chez celles que nous avons décrites plus haut. Jusqu'a un certain degré, ces différences pouvaient provenir d'une différence d'âge, c'est-à-dire les monades chez la grenouille avaient été trouvées probablement à un âge plus jeune. Leur corps, tant en repos qu'en mouvement, offrait un excellent exemple d'ondulations typiques, et les ondes, qui se déplaçaient avec rapidité, étaient aussi profondes que les étranglements chez certains *Gregarinada* (par exemple chez l'*Hæmogregarina cistudinis*, chez le *Drepanidium ranarum*, et chez d'autres.)

Quant à l'*origine* de cette monade parasitaire, selon toute probabilité une des conditions favorables à son passage de la région intestinale dans le sang, ce sont les altérations de structure de la muqueuse pendant l'inanition. Elle devient alors plus perméable pour les jeunes formes d'*Hexamitus*, qui se répandent ensuite dans toute le système vasculaire et lymphatique; vu certaines conditions données de nutrition, elle trouve dans l'organisme de l'animal habité les conditions favorables à son développement, à sa vie et à sa reproduction. Cette dernière assertion se justifie par ce fait que j'ai trouvé des formes où commençait à apparaître une certaine segmen-

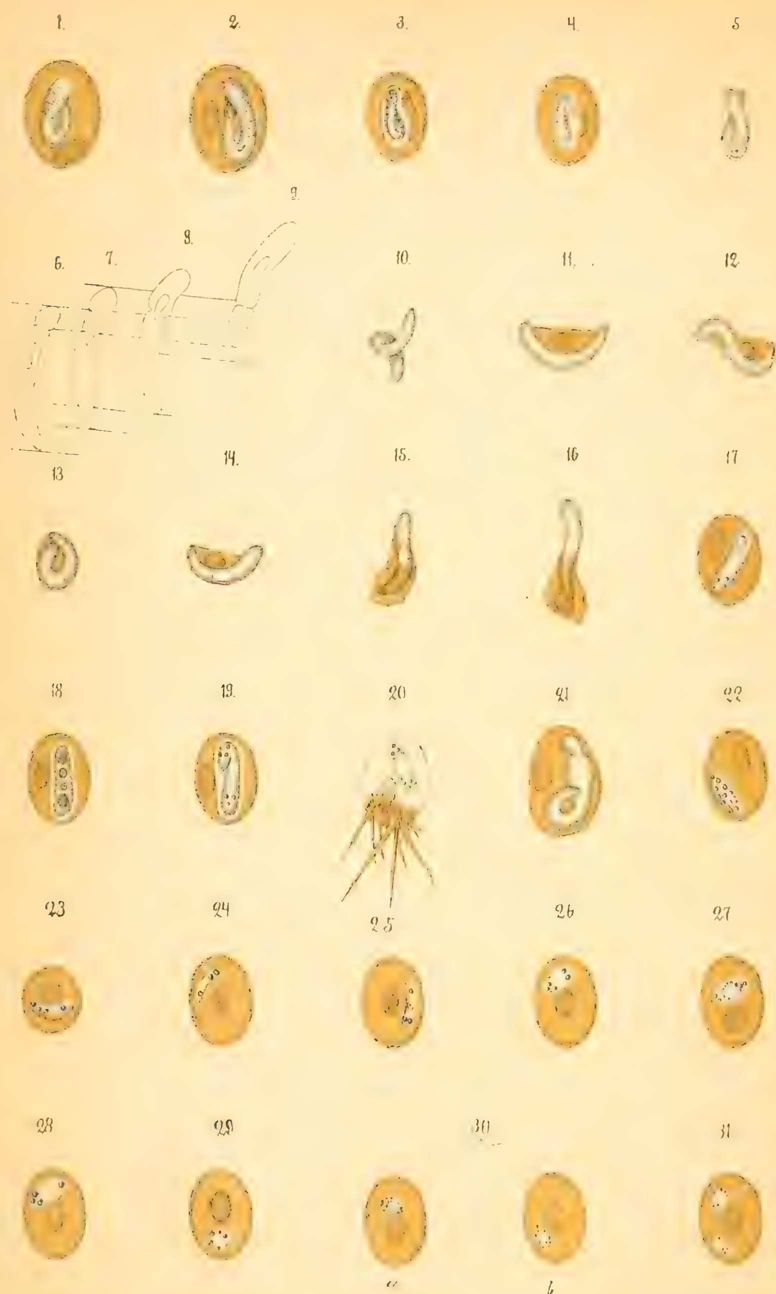
1) Voir *Archives slaves de Biol.*, p. 48-49. 1886.

tation longitudinale. Il est nécessaire d'ajouter que, chez les animaux en question, surtout chez les tortues, le canal intestinal était complètement vide. Donc vraisemblablement les conditions biologiques nécessaires à la vie des *Hexamitus*, comme entozoaires du canal intestinal, subissaient des troubles sérieux.

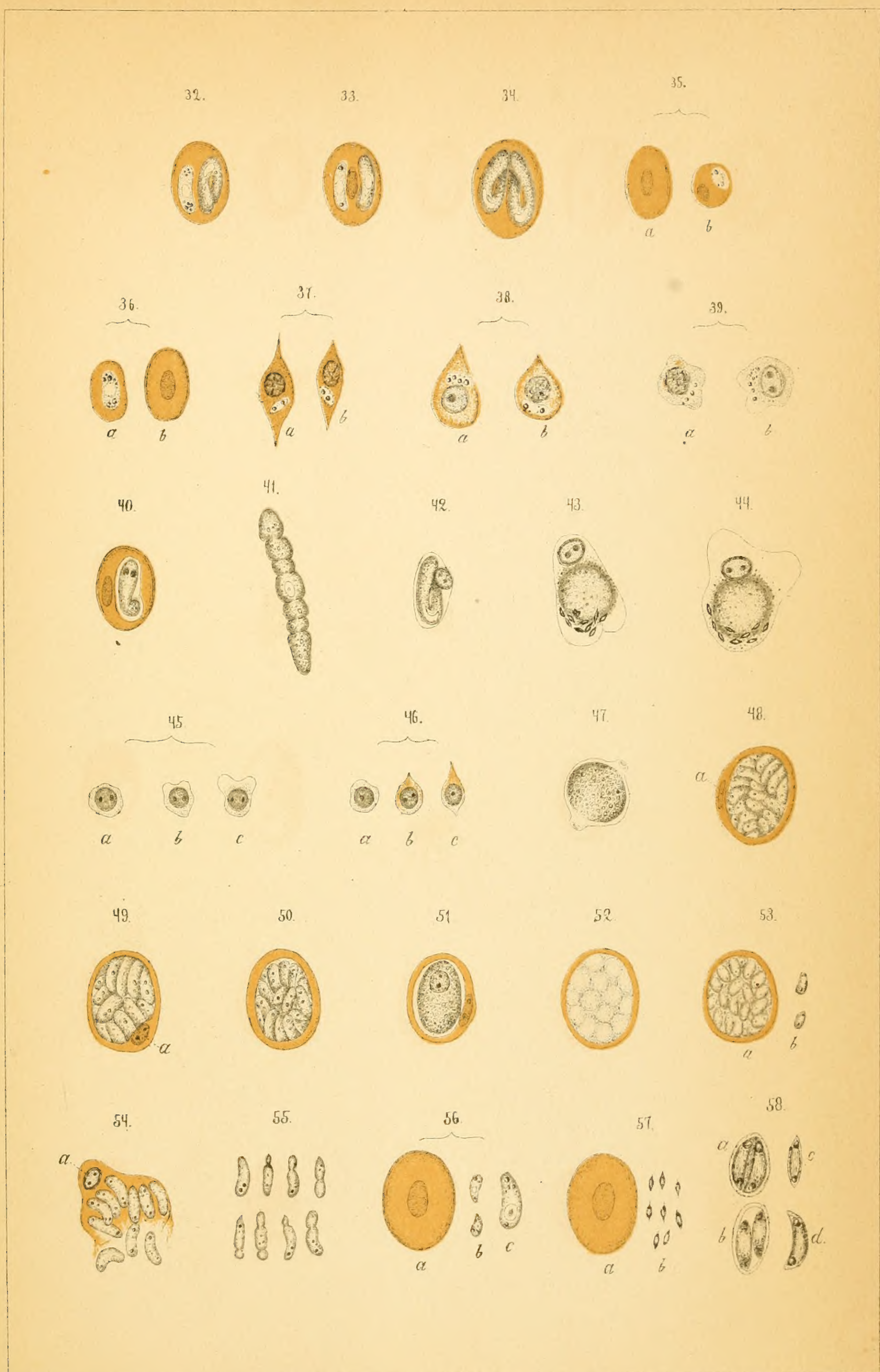
Ces conditions, étant devenues défavorables, ont provoqué l'émigration des monades dans le sang et la lymphe (probablement par les chylifères).

Table des matières.

I. Parasites grégariniques (Haemogregarina).



B. Danilewsky del. P. Socoloff grav. Lith. Silberberg. Kharkoff.



B. Danilewsky del. P. Socoloff grav. Lith. Silberberg. Kharkoff.